

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001 年 4 月 12 日 (12.04.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/25447 A1

- (51) 国際特許分類: C12N 15/60, 15/54, 15/53, 15/31, 15/56, 9/88, 9/12, 9/04, C07K 14/34, C12N 9/26, C12P 13/04
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/06913
- (22) 国際出願日: 2000 年 10 月 4 日 (04.10.2000)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願平 11/282716 1999 年 10 月 4 日 (04.10.1999) JP
特願平 11/311147 1999 年 11 月 1 日 (01.11.1999) JP
特願 2000/120687 2000 年 4 月 21 日 (21.04.2000) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 味の素株式会社 (AJINOMOTO CO., INC.) [JP/JP]; 〒104-8315 東京都中央区京橋一丁目 15 番 1 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 平野聖子 (HIRANO, Seiko) [JP/JP]. 野中 源 (NONAKA, Gen) [JP/JP]. 松崎友美 (MATSUZAKI, Yumi) [JP/JP]. 秋好直樹 (AKIYOSHI, Naoki) [JP/JP]. 中村佳苗 (NAKAMURA, Kanae) [JP/JP]. 木村英一郎 (KIMURA, Eiichiro) [JP/JP]. 大住 剛 (OSUMI, Tsuyoshi) [JP/JP]. 松井和彦 (MATSUI, Kazuhiko) [JP/JP]. 河原義雄 (KAWAHARA, Yoshio) [JP/JP]. 倉橋 修 (KURAHASHI, Osamu) [JP/JP]. 中松 亘 (NAKAMATSU, Tsuyoshi) [JP/JP]. 杉本慎一 (SUGIMOTO, Shinichi) [JP/JP]; 〒210-8681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の素株式会社 発酵技術研究所内 Kanagawa (JP).
- (74) 代理人: 遠山 勉, 外 (TOYAMA, Tsutomu et al.); 〒103-0004 東京都中央区東日本橋 3 丁目 4 番 10 号 ヨコヤマビル 6 階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,

[続葉有]

(54) Title: THERMOPHILIC AMINO ACID BIOSYNTHESIS SYSTEM ENZYME GENE OF THERMOTOLERANT CORYNEFORM BACTERIUM

(54) 発明の名称: 高温耐性コリネ型細菌の耐熱性アミノ酸生合成系酵素遺伝子

(57) Abstract: PCR is effected by using chromosomal DNA of *Corynebacterium thermoaminogenes* as a template with plural primer pairs designed on the basis of domains conserved at the amino acid level among known gene sequences of various microorganisms corresponding to genes encoding L-amino acid biosynthesis system enzymes originating in *Corynebacterium thermoaminogenes* (preferably enzymes acting at higher temperatures than *Corynebacterium glutamicum* does). By using primers providing amplified fragments as screening primers, clones containing the target DNA fragments are selected from a *Corynebacterium thermoaminogenes* chromosomal DNA plasmid library.

(57) 要約:

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス由来の L-アミノ酸生合成系酵素、好ましくはコリネバクテリウム・グルタミカムよりも高い温度で機能する酵素をコードする遺伝子に対応する種々の微生物の既知の遺伝子配列の間でアミノ酸レベルで保存されている領域に基づいて設計した複数組のプライマーとして、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの染色体 DNA を鋳型として PCR を行い、増幅断片が得られたプライマーをスクリーニング用プライマーに用いて、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの染色体 DNA のプラスミドライブラリーから、目的とする DNA 断片を含むクローンを選択する。

WO 01/25447 A1



DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

- (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,

LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明細書

高温耐性コリネ型細菌の耐熱性アミノ酸生合成系酵素遺伝子

技術分野

本発明は、高温耐性コリネ型細菌であるコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの耐熱性酵素遺伝子、特にL-グルタミン酸等のL-アミノ酸生合成系酵素及び取り込み系遺伝子に関する。

背景技術

現在、L-グルタミン酸等のL-アミノ酸の製造は、コリネ型細菌による発酵生産が主流となっている。アミノ酸の発酵生産は、生産能に優れた菌株の育種や発酵技術の開発によって、コストダウンが図られている。従来、コストダウン実現の方向性は、高収率化が主なものであるが、発酵におけるコストとしては、原料以外にも培養中に発生する発酵熱の冷却エネルギーを無視することはできない。すなわち、発酵に用いられている通常の微生物は、発酵中に自らが発生する発酵熱により培地の温度が上昇し、発酵に必要な酵素が失活したり生産菌が死滅したりするために、発酵中に培地を冷却することが必要となっている。したがって、冷却費用を低減するために、高温での発酵に関する検討が古くから行われている。また、高温で発酵を行うことが可能となれば、反応速度を向上させることができる可能性もある。しかし、これまでのところ、L-アミノ酸発酵において、有効な高温培養は実現していない。

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス (*Corynebacterium thermoaminogenes*) は、L-アミノ酸の発酵に汎用されているコリネバクテリウム・グルタミカム (*Corynebacterium glutamicum*) (ブレビバクテリウム・ラクトファーメントム (*Brevibacterium lactofermentum*)) 等と同様にコリネ型細菌に分類される細菌であるが、生育至適温度はコリネバクテリウム・グルタミカムの30~35℃に対して37~43℃と高く、L-グルタミン酸生成の至適温度も42~45℃とかなり高温側にシフトしている (特開昭63-240779号)。

ところで、コリネバクテリウム属またはブレビバクテリウム属細菌において、エシェリヒア・コリ又はコリネバクテリウム・グルタミカム由来のL-アミノ酸合成系酵素をコードする遺伝子を導入することにより、同L-アミノ酸の生産能を増強する技術が開発されている。例えば、このような酵素として、例えば、L-グルタミン酸生合成系酵素であるクエン酸シンターゼ（特公平7-121228号）、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ（特開昭61-268185号）、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ、アコニット酸ヒドラターゼ遺伝子（特開昭63-214189号）等がある。

しかし、高温耐性のコリネ型細菌由来のL-アミノ酸生合成酵素及びそれらをコードする遺伝子は報告されていない。

発明の開示

本発明は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス由来の酵素、好ましくはコリネバクテリウム・グルタミカムよりも高い温度で機能する酵素をコードする遺伝子を提供することを課題とする。

本発明者は、上記課題を解決するために鋭意検討を行った結果、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのアミノ酸生合成系酵素をコードする遺伝子、又はアミノ酸の細胞内への取り込みに関与するタンパク質をコードする遺伝子を単離することに成功し、本発明を完成するに至った。

すなわち本発明は、以下のとおりである。

（１）配列番号２に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、１若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、50℃、5分の熱処理後に30%以上の残存活性を有するイソシトレートリアーゼ活性を有するタンパク質。

（２）配列番号４に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、１若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するアシルCoAカルボキシラーゼ活性に関与するタンパク質。

（３）配列番号６に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、１若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位

を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来する D t s R 活性を有するタンパク質。

(4) 配列番号 8 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来する D t s R 活性を有するタンパク質。

(5) 配列番号 10 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、60℃で30℃における活性と同等又はそれ以上のホスホフルクトキナーゼ活性を有するタンパク質。

(6) 配列番号 94 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスにシュークロース資化能を付与する活性を有するタンパク質。

(7) 配列番号 17～20 に記載のアミノ酸配列のいずれかを有するタンパク質、又は、前記アミノ酸配列のいずれかにおいて、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するグルタミン酸の取り込みに関与する機能を有するタンパク質。

(8) 配列番号 22 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するビルビン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

(9) 配列番号 24 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質。

(10) 配列番号 26 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は

逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、45℃、5分の熱処理後に50%以上の残存活性を有するホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質。

(11) 配列番号28に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、50℃、3分の熱処理後に30%以上の残存活性を有するアコニターゼ活性を有するタンパク質。

(12) 配列番号30に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、45℃、10分の熱処理後に50%以上の残存活性を有するイソクエン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

(13) 配列番号32に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するジヒドロリボアミドデヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

(14) 配列番号34に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、50℃、10分の熱処理後に30%以上の残存活性を有する2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

(15) 配列表の配列番号80に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、42℃で37℃における活性と同等又はそれ以上のグルタミン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

(16) 配列表の配列番号90に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、37℃で23℃における活性と同等又はそれ以上のクエン酸シンターゼ活性を有するタンパク質。

(17) 配列番号2に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ

酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、イソシトレートリアーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(18) 下記(a1)又は(b1)に示すDNAである(17)のDNA。

(a1) 配列表の配列番号1に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b1) 配列表の配列番号1に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、イソシトレートリアーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(19) 配列番号4に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、アシルCo-Aカルボキシラーゼ活性に関与するタンパク質をコードするDNA。

(20) 下記(a2)又は(b2)に示すDNAである(19)のDNA。

(a2) 配列表の配列番号3に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b2) 配列表の配列番号3に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、アシルCo-Aカルボキシラーゼ活性に関与するタンパク質をコードするDNA。

(21) 配列番号6に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、DtsR活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(22) 下記(a3)又は(b3)に示すDNAである(21)のDNA。

(a3) 配列表の配列番号5に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b3) 配列表の配列番号5に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、DtsR活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(23) 配列番号8に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、DtsR活性を有するタンパク質をコー

ドするDNA。

(24) 下記(a4)又は(b4)に示すDNAである(23)のDNA。

(a4) 配列表の配列番号7に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b4) 配列表の配列番号7に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、DtsR活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(25) 配列番号10に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ホスホフルクトキナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(26) 下記(a5)又は(b5)に示すDNAである(25)のDNA。

(a5) 配列表の配列番号9に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b5) 配列表の配列番号9に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ホスホフルクトキナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(27) 配列番号93に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、インベルターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(28) 下記(a6)又は(b6)に示すDNAである(27)のDNA。

(a6) 配列表の配列番号93に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b6) 配列表の配列番号93に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、インベルターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(29) 配列番号17～20に記載のアミノ酸配列のいずれかを有するタンパク質、又は、前記アミノ酸配列のいずれかにおいて、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、グルタミン酸の取り込みに関与する機能を有するタンパク質、をコードするDNA。

(30) 下記 (a 7) 又は (b 7) に示す DNA である (29) の DNA。

(a 7) 配列表の配列番号 16 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 7) 配列表の配列番号 16 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、グルタミン酸の取り込みに関与する機能を有するタンパク質をコードする DNA。

(31) 配列番号 22 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ビルビン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

(32) 下記 (a 8) 又は (b 8) に示す DNA である (32) の DNA。

(a 8) 配列表の配列番号 21 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 8) 配列表の配列番号 21 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ビルビン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

(33) 配列番号 24 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

(34) 下記 (a 9) 又は (b 9) に示す DNA である (33) の DNA。

(a 9) 配列表の配列番号 23 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 9) 配列表の配列番号 23 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

(35) 配列番号 26 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ホスホエノールビルビン酸カルボキシ

ラーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(36) 下記(a10)又は(b10)に示すDNAである(35)のDNA。

(a10) 配列表の配列番号25に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b10) 配列表の配列番号25に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(37) 配列番号28に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、アコニターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(38) 下記(a11)又は(b11)に示すDNAである(37)のDNA。

(a11) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b11) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、アコニターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(39) 配列番号30に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(40) 下記(a12)又は(b12)に示すDNAである(39)のDNA。

(a12) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b12) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(41) 配列番号32に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミ

ノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ジヒドロリボアミドデヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(42) 下記(a13)又は(b13)に示すDNAである(41)のDNA。

(a13) 配列表の配列番号31に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b13) 配列表の配列番号31に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ジヒドロリボアミドデヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(43) 配列番号34に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(44) 下記(a14)又は(b14)に示すDNAである(43)のDNA。

(a14) 配列表の配列番号33に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b14) 配列表の配列番号33に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(45) 配列表の配列番号80に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、42℃で37℃における活性と同等又はそれ以上のグルタミン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

(46) 下記(a15)又は(b15)に示すDNAである(45)のDNA。

(a15) 配列表の配列番号79に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b15) 配列表の配列番号79に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、42℃

で 37℃における活性と同等又はそれ以上のグルタミン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

(47) 配列表の配列番号 90 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、37℃で 23℃における活性と同等又はそれ以上のクエン酸シンターゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

(48) 下記 (a16) 又は (b16) に示す DNA である (47) の DNA。

(a16) 配列表の配列番号 89 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b16) 配列表の配列番号 89 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、37℃で 23℃における活性と同等又はそれ以上のクエン酸シンターゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

(49) L-アミノ酸生産能を有し、かつ、(17)～(48)のいずれかの DNA が導入された微生物を培地に培養し、L-アミノ酸を培地に生成蓄積させ、該培地より L-アミノ酸を採取することを特徴とする L-アミノ酸の製造法。

以下、上記の各 DNA のいずれか、又はこれらを総称して、本発明の DNA ということがある。

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明の DNA の塩基配列及び遺伝子名、並びに本発明の DNA がコードするタンパク質を表 1 に示す。

表 1

塩基配列	遺伝子名	コードされるタンパク質 (略称)
配列番号 1	aceA	イソシトレートリアーゼ (ICL)
配列番号 3	accBC	アシルCo-Aカルボキシラーゼ BCサブユニット
配列番号 5	dtsR1	D T S R 1 蛋白質
配列番号 7	dtsR2	D T S R 2 蛋白質
配列番号 9	pfk	ホスホフルクトキナーゼ
配列番号 11, 13, 15, 93	scrB	インベルターゼ
配列番号 16	gluABCD	グルタミン酸取り込み系
配列番号 21	pdhA	ピルビン酸デヒドロゲナーゼ
配列番号 23	pc	ピルビン酸カルボキシラーゼ
配列番号 25	ppc	ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ
配列番号 27	acn	アコニターゼ
配列番号 29	icd	イソクエン酸デヒドロゲナーゼ
配列番号 31	lpd	ジヒドロリポアミドデヒドロゲナーゼ
配列番号 33	odhA	2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ
配列番号 79	gdh	グルタミン酸デヒドロゲナーゼ
配列番号 89	gltA	クエン酸シンターゼ

尚、配列番号 3、23、25、31 及び 33 におけるオープン・リーディング・フレーム (ORF)、及び配列番号 16 の 4 番目の ORF はいずれも GTG から始まっている。配列表にはこの GTG によりコードされるアミノ酸はバリンとして記載されているが、メチオニンである可能性がある。

また、配列番号 16 は 4 つの ORF を含み、5' 側から順に gluA、gluB、gluC 及び gluD に対応する。

上記の各 DNA は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310 株 (FERM BP-1542) の染色体 DNA から単離されたものである。但し、AJ12310 株は、インベルターゼ活性及びシュークロース資化性を持たず、同株から単離した scrB 遺伝子断片には、オープンリーディングフレームが存在しなかったため、配列番号 11 及び 13 に示す DNA は、インベルターゼ活性及びシュークロース資化性を

有するコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12340株 (FERM BP-1539) 及びAJ12309株 (FERM BP-1541) からそれぞれ単離されたものである。

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株 (YS-314株とも称される) 及びAJ12309株 (YS-155株とも称される) は、1987年3月10日に通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所 (郵便番号305-8566 日本国茨城県つくば市東一丁目1番3号) に、各々順にFERM P-9246及びFERM P-9245の受託番号で寄託され、1987年10月27日にブタベスト条約に基づく国際寄託に移管され、受託番号FERM B P-1542及びFERM BP-1541が付与されている。

AJ12340株 (YS-40株とも称される) は、1987年3月13日に工業技術院生命工学工業技術研究所 (郵便番号305-8566 日本国茨城県つくば市東一丁目1番3号) にFERM P-9277の受託番号で寄託され、1987年10月27日にブタベスト条約に基づく国際寄託に移管され、FERM BP-1539が付与されている。

尚、配列番号11、13及び15に示す塩基配列は、scrBの部分配列であって、配列番号11及び13は配列番号12及び14に示すインベルターゼの部分アミノ酸配列をコードしている。

目的とする遺伝子の部分断片を含むDNAは、すでに報告されているプレビバクテリウム・ラクトファーマンタム等の種々の微生物の目的とする遺伝子の塩基配列の比較を行い、塩基配列がよく保存されている領域を選択し、その領域の塩基配列に基づいて設計したプライマーを用い、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの染色体DNAを鋳型とするPCRを行うことによって、取得することができる。得られたDNA断片又はその配列に基づいて作製したプローブを用いたハイブリダイゼーションにより、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの染色体DNAライブラリーをスクリーニングすることによって、目的とする遺伝子全長を含むDNA断片を得ることができる。また、得られた遺伝子の部分断片を用いてゲノムウォーキングを行うことによって、目的とする遺伝子全長を含むDNA断片を得ることができる。ゲノムウォーキングと、市販のキット、例えばTaKaRa LA PCR in vitro Cloning Kit (宝酒造 (株) 製) を用いて行うことができる。

例えば、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ (以下、「GDH」ともいう) をコード

するDNA（以下、「gdh」ともいう）は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス、例えばコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株の染色体DNAから、該染色体DNAを鋳型とし、配列表の配列番号77及び78に示す塩基配列を有するプライマーを用いたPCR（ポリメラーゼ・チェーン・リアクション）により部分断片を取得することができる。さらに、得られた部分断片を用いてゲノムウォーキングを行うことにより、gdh遺伝子全体を取得することができる。

また、クエン酸シンターゼ（以下「CS」ともいう）をコードするDNA（以下、「gltA」ともいう）は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス、例えばコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株の染色体DNAから、該染色体DNAを鋳型とし、配列表の配列番号83及び84に示す塩基配列を有するプライマーを用いたPCR（ポリメラーゼ・チェーン・リアクション）により部分断片を取得することができる。さらに、得られた部分断片を用いてゲノムウォーキングを行うことにより、gltA遺伝子全体を取得することができる。

上記プライマーの塩基配列は、すでに報告されている種々の微生物のgdh遺伝子又はgltA遺伝子の塩基配列の比較を行い、塩基配列がよく保存されている領域を見出し、その領域の塩基配列に基づいて設計したものである。

同様に、他の酵素をコードするDNAも、表1に示すプライマーを用いてそれらの酵素をコードする部分断片を取得することができ、得られた部分断片を用いて目的とする遺伝子全長を得ることができる。

本発明のDNAは、上記のようにして取得されたものであるが、本発明のDNAの塩基配列に基づいて作製したオリゴヌクレオチドをプローブとするハイブリダイゼーションによって、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの染色体DNAライブラリーから取得することもできる。

染色体DNAの調製、染色体DNAライブラリーの作製、ハイブリダイゼーション、PCR、プラスミドDNAの調製、DNAの切断及び連結、形質転換等の方法は、Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T., Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1.21(1989)に記載されている。また、ゲノムウォーキングは、市販のキット、例えばTaKaRa LA PCR in vitro Cloning Kit（宝酒

造（株）製）を用いて行うことができる。

次に、本発明のDNAを取得する具体的な方法を例示する。

まず、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの染色体DNAを、適当な制限酵素、例えばSau3AIで消化し、アガロースゲル電気泳動により分画して約4～6 kbのDNAフラグメントを取得する。得られたDNAフラグメントをpHSG399等のクローニングベクターに挿入し、得られた組換えプラスミドでエシェリヒア・コリを形質転換して、染色体DNAのプラスミドライブラリーを作製する。

一方、プラスミドライブラリーから目的の遺伝子を含むクローンをPCRにより選択するために用いるプライマーを作製する。このプライマーは、目的とする遺伝子に対応する種々の微生物の既知の遺伝子配列の間でアミノ酸レベルで保存されている領域に基づいて設計する。その際、コリネ型細菌のコドンユースを考慮してプライマーを複数組つつ設計する。

次に、作製されたプライマーの適正を調べるために、これらのプライマーを用いて、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの染色体DNAを鋳型としてPCRを行う。そして、増幅断片が得られたプライマーをスクリーニング用プライマーとして用い、プラスミドライブラリーから調製した組換えプラスミドを鋳型としてPCRを行い、目的とするDNA断片を含むクローンを選択する。この操作は、一次スクリーニングとして形質転換体数十株を含むバッチ毎に行い、二次スクリーニングとして増幅断片が得られたバッチについてコロニーPCRを行うことにより、迅速に行うことができる。尚、増幅された遺伝子の断片長は、表2～7に記載した。

上記のようにして選択された形質転換体から組換えDNAを調製し、挿入断片の塩基配列をダイ・デオキシ・ターミネーション法等により決定し、塩基配列を既知の遺伝子配列と比較することによって、目的の遺伝子を含むことを確認する。

得られたDNA断片が、目的とする遺伝子の一部を含んでいる場合には、ゲノムウォーキングにより欠失部分を取得する。

本発明のDNAは、コードされるタンパク質が本来の機能を有する限り、1若しくは複数の位置での1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むタンパク質をコードするものであってもよい。ここで、「数個」と

は、アミノ酸残基のタンパク質の立体構造における位置や種類によっても異なるが、一般的に、それぞれのタンパク質のアミノ酸配列全体に対し、30から40%以上、好ましくは55～65%以上の相同性を有することが好ましい。具体的には、前記「数個」は、2～数百個、好ましくは、2～数十個、より好ましくは2～10個である。

塩基配列及びアミノ酸配列の相同性解析は、例えば、LipmanとPearsonの方法 (Science, 227, 1435-1441, 1985) 等により、市販のソフトウェア (Genetyx-Mac computer program, Software Development Co., Tokyo, Japan) を用いて計算することができる。

GDHは、GDHを構成するアミノ酸配列全体に対し、40～80%以上、好ましくは80～90%以上の相同性を有し、42℃で37℃におけるGDH活性と同等又はそれ以上の活性を有するものであってもよい。また、前記「数個」は、2から300個、好ましくは、2から50個、より好ましくは2から10個である。

CSは、CSを構成するアミノ酸配列全体に対し、40～80%以上、好ましくは80～90%以上の相同性を有し、37℃で23℃におけるCS活性と同等又はそれ以上の活性を有するものであってもよい。また、前記「数個」は、2から300個、好ましくは、2から50個、より好ましくは2から10個である。

上記のような本来のタンパク質と実質的に同一のタンパク質をコードするDNAは、例えば部位特異的変異法によって、特定の部位のアミノ酸残基が置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むように、それぞれのタンパク質をコードするDNAの塩基配列を改変することによって得られる。また、上記のような改変されたDNAは、従来知られている変異処理によっても取得され得る。変異処理としては、目的の遺伝子をコードするDNAをヒドロキシルアミン等でインビトロ処理する方法、及び目的の遺伝子をコードするDNAを保持する微生物、例えばエシェリヒア属細菌を、紫外線照射またはN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン (NTG) もしくは亜硝酸等の通常変異処理に用いられている変異剤によって処理する方法が挙げられる。

また、上記のような塩基の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位等には、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの菌株の違い等に基づく場合などの天然に生

じる変異 (mutant又はvariant) も含まれる。

変異を有するDNAを、適当な細胞で発現させ、発現産物のタンパク質の活性又は機能を調べることにより、本来のタンパク質と実質的に同一のタンパク質をコードするDNAが得られる。また、そのようなDNAは、変異を有するタンパク質をコードするDNAまたはこれを保持する細胞から、例えば表1に示す各配列番号の塩基配列を有するDNAもしくはそのコード領域又はその塩基配列から調製されるプローブとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、当該タンパク質が本来有する活性を示すタンパク質をコードするDNAを単離することによっても得ることができる。前記活性としては、GDHでは42°Cで、CSでは37°Cで、各々の酵素活性を示すことが好ましい。

上記プローブは、表1に示す各配列番号の塩基配列を有するDNA、又はそれらの塩基配列を有するDNAから、適当なプライマーを用いてPCRにより調製することができる。

上記でいう「ストリンジェントな条件」とは、いわゆる特異的なハイブリッドが形成され、非特異的なハイブリッドが形成されない条件をいう。この条件を明確に数値化することは困難であるが、一例を示せば、相同性が高いDNA同士、例えば50%以上の相同性を有するDNA同士がハイブリダイズし、それより相同性が低いDNA同士がハイブリダイズしない条件、あるいは通常のサザンハイブリダイゼーションの洗いの条件である60°C、1×SSC、0.1%SDS、好ましくは、0.1×SSC、0.1%SDSに相当する塩濃度でハイブリダイズする条件が挙げられる。

このような条件でハイブリダイズする遺伝子の中には途中にストップコドンが発生したものや、活性中心の変異により活性を失ったものも含まれるが、それらについては、市販の活性発現ベクターにつなぎ、活性又は機能を調べることによって容易に取り除くことができる。

本発明のDNAを、適当な宿主-ベクター系を用いて発現させることにより、それぞれのDNAに対応したタンパク質を製造することができる。

遺伝子の発現に用いる宿主としては、ブレヴィバクテリウム・ラクトファーマンタム (コリネバクテリウム・グルタミカム)、コリネバクテリウム・サーモアミ

ノゲネス等のコリネ型細菌、エシェリヒア・コリ、バチルス・ズブチリスをはじめとする種々の原核細胞、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) をはじめとする種々の真核細胞、動物細胞、植物細胞が挙げられるが、これらの中では原核細胞、特にコリネ型細菌及びエシェリヒア・コリが好ましい。

本発明のDNAは、エシェリヒア・コリ及び／又はコリネ型細菌等の細胞内において自律複製可能なベクターDNAに接続して組換えDNAを調製し、これをエシェリヒア・コリ細胞に導入しておく、後の操作がしやすくなる。エシェリヒア・コリ細胞内において自律複製可能なベクターとしては、プラスミドベクターが好ましく、宿主の細胞内で自立複製可能なものが好ましく、例えば pUC19、pUC18、pBR322、pHSG299、pHSG399、pHSG398、RSF1010等が挙げられる。

コリネ型細菌の細胞内において自律複製可能なベクターとしては、pAM330 (特開昭58-67699号公報参照)、pHM1519 (特開昭58-77895号公報参照) 等が挙げられる。また、これらのベクターからコリネ型細菌中でプラスミドを自律複製可能にする能力を持つDNA断片を取り出し、前記エシェリヒア・コリ用のベクターに挿入すると、エシェリヒア・コリ及びコリネ型細菌の両方で自律複製可能ないわゆるシャトルベクターとして使用することができる。

このようなシャトルベクターとしては、以下のものが挙げられる。尚、それぞれのベクターを保持する微生物及び国際寄託機関の受託番号をカッコ内に示した。

- pAJ655 エシェリヒア・コリAJ11882(FERM BP-136)
 コリネバクテリウム・ゲルタミクムSR8201(ATCC39135)
- pAJ1844 エシェリヒア・コリAJ11883(FERM BP-137)
 コリネバクテリウム・ゲルタミクムSR8202(ATCC39136)
- pAJ611 エシェリヒア・コリAJ11884(FERM BP-138)
- pAJ3148 コリネバクテリウム・ゲルタミクムSR8203(ATCC39137)
- pAJ440 バチルス・ズブチリスAJ11901(FERM BP-140)
- pHC4 エシェリヒア・コリAJ12617(FERM BP-3532)

本発明のDNAとコリネ型細菌で機能するベクターを連結して組み換えDNAを調製するには、本発明のDNAの末端に合うような制限酵素でベクターを切断

する。連結は、T 4 D N A リガーゼ等のリガーゼを用いて行うのが普通である。

上記のように調製した組み換え D N A をコリネ型細菌等の宿主に導入するには、これまでに報告されている形質転換法に従って行えばよい。例えば、エシェリヒア・コリ K - 1 2 について報告されているような、受容菌細胞を塩化カルシウムで処理して D N A の透過性を増す方法 (Mandel, M. and Higa, A., J. Mol. Biol., 53, 159 (1970)) があり、バチルス・ズブチリスについて報告されているような、増殖段階の細胞からコンピテントセルを調製して D N A を導入する方法 (Duncan, C.H., Wilson, G.A. and Young, F.E., Gene, 1, 153 (1977)) がある。あるいは、バチルス・ズブチリス、放線菌類及び酵母について知られているような、D N A 受容菌の細胞を、組換え D N A を容易に取り込むプロトプラストまたはスフェロプラストの状態にして組換え D N A を D N A 受容菌に導入する方法 (Chang, S. and Choen, S.N., Molec. Gen. Genet., 168, 111 (1979); Bibb, M.J., Ward, J. M. and Hopwood, O.A., Nature, 274, 398 (1978); Hinnen, A., Hicks, J.B. and Fink, G.R., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75 1929 (1978)) も応用できる。コリネ型細菌においては、電気パルス法 (特開平 2 - 2 0 7 7 9 1 号公報参照) が有効である。

また、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス等の高温耐性コリネ型細菌の形質転換は、宿主細胞の細胞壁の構造を変化させる薬剤で処理し、細胞壁の構造が変化した細胞と D N A を含む溶液に電気パルスを印加することにより、効率よく形質転換を行うことができる。前記薬剤とは、薬剤で処理した細菌と D N A を含む溶液に電気パルスを印加したときに、同細菌が D N A を取り込むことができるように、細胞壁の構造を変化させることができる薬剤 (以下、「細胞壁処理剤」ということがある) であり、細菌の正常な細胞壁の合成を阻害する薬剤、又は、細菌の細胞壁を溶解する薬剤が挙げられる。具体的には、リゾチーム、ペニシリン G、グリシン等が挙げられる。

細胞壁処理剤は 1 種でもよく、2 種以上を用いてもよい。前記薬剤の中では、リゾチーム又はペニシリン G が好ましく、リゾチームが特に好ましい。

さらに、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの形質転換は、細胞壁を超音波処理 (FEMS Microbiology Letters, 151, 135-138 (1987)) 等の物理的な方

法で弱化させた宿主細胞とDNAを含む溶液に電気パルスを印加することによっても、行うことができる。

本発明のDNAに含まれる遺伝子の発現を効率的に実施するために、これらの遺伝子のコード領域の上流に、宿主細胞内で働くlac、trp、Pl等のプロモーターを連結してもよい。ベクターとして、プロモーターを含むベクターを用いると、各遺伝子と、ベクター及びプロモーターとの連結を一度に行うことができる。

上記のようにして製造され得る本発明のタンパク質は、必要に応じて、菌体抽出液又は培地からイオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィー、塩析、溶媒沈殿等、通常の酵素の精製法を用いて精製することができる。

本発明のタンパク質は、コリネバクテリウム・グルタミカム等の対応するタンパク質に比べて、熱安定性に優れているか、又は高温下で高い活性を示すことが期待される。例えば、ブレビバクテリウム・ラクトファーマメンタムのGDHが37℃付近で最もGDHの比活性が高く、42℃付近で活性は著しく低下するのに対し、本発明のGDHは、42℃で37℃における活性と同等又はそれ以上のGDH活性を示す。好ましい実施態様では、本発明のGDHは、42℃付近で最も比活性が高く、45℃でも活性を示す。

GDH活性は、例えば、100mM Tris-HCl (pH8.0)、20mM NH₄Cl、10mM α -ケトグルタル酸ナトリウム、0.25mM NADPHに酵素を加え、340nmにおける吸光度の変化を測定することによって、測定することができる (Molecular Microbiology (1992) 6, 317-326)。

また、ブレビバクテリウム・ラクトファーマメンタムのCSが23℃付近で最もCSの比活性が高く、33℃付近で活性が著しく低下するのに対し、本発明のCSは、37℃で23℃における活性と同等又はそれ以上の活性を示す。好ましい実施態様では、本発明のCSは、37℃付近までは反応温度に依存して高い比活性を示し、40℃でも37℃における活性の約4割の活性を示す。

CS活性は、例えば、Methods in Enzymol., 13, 3-11 (1969)に記載の方法によって測定することができる。

さらに、本発明の他のタンパク質は、典型的には以下の性質を有する。イソシトレートリアーゼは、50℃、5分の熱処理後に30%以上の残存活性を有する。ホスホフルクトキナーゼは、60℃で30℃における活性と同等又はそれ以上の活性を有する。ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼは、45℃、5分の熱処理後に50%以上の残存活性を有する。アコニターゼは、50℃、3分の熱処理後に30%以上の残存活性を有する。イソクエン酸デヒドロゲナーゼは、45℃、10分の熱処理後に50%以上の残存活性を有する。2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼは、50℃、10分の熱処理後に30%以上の残存活性を有する。

本発明のタンパク質は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス、例えばコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株の菌体破碎液から、それぞれの活性を指標として、通常の酵素の精製法、例えば、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィー、塩析、溶媒沈殿等の方法で精製することによって、取得することもできる。

本発明のDNAのうち、pfk、pdhA、pc、ppc、acn、icd、gdh及びgltA（これらの遺伝子がコードする酵素名は表1に示す）は、コリネ型細菌等のL-アミノ酸生産菌に導入することによって、L-アミノ酸生産能を高めることができる。また、本発明のDNAが導入されたコリネ型細菌は、通常よりも高い温度でのL-アミノ酸の生産が可能となることが期待される。L-アミノ酸としては、L-グルタミン酸、L-アスパラギン酸、L-リジン、L-アルギニン、L-プロリン及びL-グルタミン等が挙げられる。

例えば、gdh遺伝子又はgltA遺伝子を、コリネ型細菌等のL-グルタミン酸生産菌に導入することによって、通常よりも高い温度でのL-グルタミン酸の生産が可能となることが期待される。また、ブレビバクテリウム・ラクトファーマタムのCSは、通常の培養温度、例えば31.5℃では十分に機能していない可能性があるが、本発明のgltA遺伝子を導入することによって、活性を高めることができる。

また、dtsR1及びdtsR2は、コリネ型細菌に界面活性剤に対する耐性を付与する蛋白質（DTSR蛋白）をコードする遺伝子であり、これらの遺伝子が破壊され

たコリネ型L-グルタミン酸生産菌は、野生株がほとんどL-グルタミン酸を生成しない量のビオチンが存在する条件においても著量のL-グルタミン酸を生成する。また、L-リジン生産能を有するコリネ型L-グルタミン酸生産菌は、*dt sR1*及び*dt sR2*遺伝子を増幅すると、著量のL-リジンを生産する能力が付与される（W095/23224号国際公開パンフレット、特開平10-234371号公報）。

*scrB*遺伝子は、シュクロースを含む培地でコリネ型細菌を用いてL-アミノ酸を製造する場合に、同コリネ型細菌の育種に用いることができる。

コリネ型細菌等のL-グルタミン酸生産菌において、*aceA*、*accBC*、*lpd*又は*odhA*を欠失させることにより、L-グルタミン酸生産性を高めることができる。また、*gluABCD*はL-グルタミン酸の取り込み系の遺伝子クラスターであり、コリネ型L-グルタミン酸生産菌において、*gluA*、*gluB*、*gluC*もしくは*gluD*、又はこれらの1種、2種、3種もしくは4種を欠失させることにより、培地に蓄積されるL-グルタミン酸量を増大させることができる。本発明の*aceA*、*accBC*、*lpd*、*odhA*及び*gluABCD*は、染色体上のこれらの遺伝子を破壊するのに用いることができる。

上記のようにして本発明のDNAが導入された微生物を用いてL-アミノ酸を製造するのに用いる培地は、炭素源、窒素源、無機イオン及び必要に応じその他の有機微量栄養素を含有する通常の培地である。炭素源としては、グルコース、ラクトース、ガラクトース、フラクトース、シュクロース、廃糖蜜、澱粉加水分解物などの炭水化物、エタノールやイノシトールなどのアルコール類、酢酸、フマル酸、クエン酸、コハク酸等の有機酸類を用いることができる。

窒素源としては、硫酸アンモニウム、硝酸アンモニウム、塩化アンモニウム、リン酸アンモニウム、酢酸アンモニウム等の無機アンモニウム塩、アンモニア、ペプトン、肉エキス、酵母エキス、酵母エキス、コーン・スティーブ・リカー、大豆加水分解物などの有機窒素、アンモニアガス、アンモニア水等を用いることができる。

無機イオンとしては、リン酸カリウム、硫酸マグネシウム、鉄イオン、マンガンイオン等が少量添加される。有機微量栄養素としては、ビタミンB₁などの要求物質または酵母エキス等を必要に応じ適量含有させることが望ましい。

培養は、振とう培養、通気攪拌培養等による好氣的条件下で16～72時間実施するのがよく、培養温度は30℃～47℃に、培養中pHは5～9に制御する。培養温度は、本発明のDNAが導入されていない微生物の培養に適した温度、又はそれよりも高い温度で培養する。尚、pH調整には無機あるいは有機の酸性あるいはアルカリ性物質、更にアンモニアガス等を使用することができる。

発酵液からのL-アミノ酸の採取は、L-アミノ酸の種類に応じてイオン交換樹脂法、沈澱法、晶析法その他の公知の方法を組み合わせることにより実施できる。

図面の簡単な説明

図1は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株及びブレビバクテリウム・ラクトファーマンタム2256株のグルタミン酸デヒドロゲナーゼの活性の温度による変化を示す図である。

図2は、AJ12310株及び2256株のグルタミン酸デヒドロゲナーゼの熱安定性を示す図である。

図3は、AJ12310株及び2256株のクエン酸シンターゼの活性の温度による変化を示す図である。

図4は、AJ12310株及び2256株のクエン酸シンターゼの熱安定性を示す図である。

図5は、AJ12310株及び2256株のイソシトレートリアーゼの活性の温度による変化を示す図である。

図6は、AJ12310株及び2256株のイソシトレートリアーゼの熱安定性を示す図である。

図7は、AJ12310株及び2256株のホスホフルクトキナーゼの活性の温度による変化を示す図である。

図8は、AJ12310株及び2256株のホスホフルクトキナーゼの熱安定性を示す図である。

図9は、AJ12310株及び2256株のホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼの活性の温度による変化を示す図である。

図10は、AJ12310株及び2256株のホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼの熱安定性を示す図である。

図11は、AJ12310株及び2256株のアコニターゼの活性の温度による変化を示す図である。

図12は、AJ12310株及び2256株のアコニターゼの熱安定性を示す図である。

図13は、AJ12310株及び2256株のイソクエン酸デヒドロゲナーゼ活性の温度による変化を示す図である。

図14は、AJ12310株及び2256株のイソクエン酸デヒドロゲナーゼの熱安定性を示す図である。

図15は、AJ12310株及び2256株の2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼの熱安定性を示す図である。

図16は、scrB遺伝子搭載プラスミドpSCR155の構築を示す図

図17は、pdhA遺伝子搭載プラスミドpPDHA-2の構築を示す図である。

図18は、pdhA遺伝子増幅株によるL-グルタミン酸生産性を示す図である。

(a) : 37°C (b) : 44°C

図19は、icd遺伝子搭載プラスミドpICD-4の構築を示す図である。

図20は、icd遺伝子増幅株によるL-グルタミン酸生産性を示す図である。

(a) : 37°C (b) : 44°C

図21は、プラスミドpHSG299YGDH及びpYGDHの構築を示す図である。

図22は、プラスミドpHSG299YCS及びpYCSの構築を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を実施例によりさらに具体的に説明する。

実施例1

<1>コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのプラスミドライブラリーの作製

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株を、CM2B液体培地（イーストエキストラクト（Difco社製）1g/dl、ポリペプトン（日本製薬製）1g/dl、N

aCl 0.5g/dl、ビオチン 10 μ g/dl、pH 7.0 (KOHで調整)) で37°Cにて15時間培養し、10mlの培養液から、染色体DNAを染色体DNA抽出キット (Bacterial Genome DNA Purification Kit (Advanced Genetic Technologies社製)を用いて取得した。取得したDNAを、制限酵素Sau3AIを用いて部分消化し、0.8%アガロースゲル電気泳動を行い、DNAを分画した後に、約4~6kbのDNAフラグメントをゲルから切り出し、DNAゲル抽出キット (GIBCO BRL社、ConcertTM Rapid Gel Extraction System)を用いて、目的サイズのDNA断片を取得した。

プラスミドpHSG399 (宝酒造 (株) 製) をBamHIで完全消化し、末端をアルカリフォスファターゼ (CIAP; 宝酒造 (株) 製) を用いて脱リン酸化した。このベクター断片と、上記の染色体DNA断片を宝酒造社製DNAライゲーションキットを用いて連結し、得られた組換えベクターを用いてエシェリヒア・コリ JM109を形質転換した。形質転換体の選択は、30 μ g/mlのクロラムフェニコール、0.04mg/mlのIPTG (イソプロピルー β -D-チオガラクトピラノシド)、0.04mg/mlのX-Gal (5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリルー β -D-ガラクトシド) を含むLB寒天培地 (寒天 1.5g/dlを含む) 上にて行い、白色コロニーを約4000コロニー取得した。

< 2 > 各遺伝子断片増幅用プライマーの設定

上記で得られたプラスミドライブラリーから目的の遺伝子を含むクローンをPCRにより選択するために用いるプライマーを設計した。目的とする遺伝子は前記のとおりである。

プライマーは、コリネ型細菌の既知の遺伝子配列をベースとして、他の微生物の相当する遺伝子との間でアミノ酸レベルで保存されている領域に基づいて設計した。その際、コリネ型細菌のコドンユーセージを考慮してプライマーを複数組つつ設計した。

作製されたプライマーの適正を調べるために、これらのプライマーを用いて、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株の染色体DNAを鋳型としてPCRを行い、遺伝子断片を増幅した。その結果、いずれの遺伝子も、表2~表7の上段に示すプライマーを用い、各表中に「部分断片取得のPCR」として示

した条件及びポリメラーゼでPCRを行った場合に、増幅断片が認められた。各プライマーの末尾のカッコ内の数字は、配列表中の配列番号を示す。これらのプライマーを、後述のスクリーニング用プライマーとして用いた。

表 2

遺伝子名	aceA	accBC	dtstrI
5' → 3' プライマー 3' → 5' プライマー	CCTCTACCCAGCGAACTCCG (35) CTGCCTTGAAC TCACGGTTC (36)	CATCCACCCGGGTACGGCT (37) CGGTGACTGGGTGTTCCACC (38)	ACGGGCCAGCCCTGACCGAC (39) AGCAGGCCCATGACGGCGA (40)
部分断片取得のPCR 条件及び スクリーニングPCRの条件	94°C 5min 98°C 5sec 66°C 2sec 30 cycle Z-Taq	94°C 5min 98°C 5sec 66°C 2sec 30 cycle Z-Taq	94°C 5min 98°C 5sec 66°C 2sec 30 cycle Z-Taq
ジョー-PCRの条件	94°C 7min 91°C 30sec 55°C 1sec 72°C 2.5min 30 cycle Ex-Taq	94°C 7min 91°C 30sec 55°C 1sec 72°C 2.5min 30 cycle Ex-Taq	94°C 7min 91°C 30sec 55°C 1sec 72°C 2.5min 30 cycle Ex-Taq
増幅断片	824bp	673bp	805bp

表 3

遺伝子名	dtsR2	pfk	scrB
5' → 3' プライマー 3' → 5' プライマー	ACGGCCAGCCCTGACCGAC (41) AGCAGCGCCCATGACGGCGA (42)	CCTCATCCGAGGAATCGTCC (43) CGTGGCGGCCCATGACCTCC (44)	GGNCGHYTBAAYGAYCC (45) GGRCAYTCCCACATRTANCC (46)
部分断片取得のPCR 条件及び スクリーニングPCRの条件	94°C 5min 98°C 5sec 66°C 2sec 30 cycle Z-Taq	94°C 5min 98°C 5sec 66°C 2sec 30 cycle Z-Taq	94°C 5min 98°C 5sec 50°C 10sec 72°C 20sec 40 cycle Z-Taq
コピ-PCRの条件	94°C 7min 91°C 30sec 55°C 1sec 72°C 2.5min 30 cycle Ex-Taq	94°C 7min 91°C 30sec 55°C 1sec 72°C 2.5min 30 cycle Ex-Taq	94°C 7min 91°C 30sec 55°C 1sec 72°C 2.5min 30 cycle Ex-Taq
増幅断片	805bp	472bp	500bp

表 4

遺伝子名	gluABCD	pdhA
5' → 3' プライマー 3' → 5' プライマー	CCATCCGGATCCGGCAAGTC (47) AATCCCATCTCGTGGGTAAC (48)	ACTGTGTCCATGGGTCTTGGCCC (49) CGCTGGAATCCGAACATCGA (50)
部分断片 取得の PCR条件	94°C 5min 98°C 5sec 50°C 10sec 72°C 20sec 30 cycle Z-Taq	94°C 5min 98°C 5sec 50°C 10sec 72°C 20sec 30 cycle Z-Taq
増幅断片	500bp	1200bp
スクリーニング PCR ジョー PCR の条件	94°C 5min 94°C 30sec 50°C 1min 72°C 2min 30 cycle EX-Taq	94°C 5min 94°C 30sec 50°C 1min 72°C 2min 30 cycle EX-Taq

表 5

遺伝子名	pc	ppc
5' → 3' プライマー 3' → 5' プライマー	GGCGCAACCTACGACGTTGCAATGCG (51) TGGCCGCTGGGATCTCGTG (52)	GGTTCCTGGATTGGTGGAGA (53) CCGCCATCCTTGTTGGAATC (54)
部分断片 取得の PCR条件	94°C, 5min 98°C, 5sec 55°C, 80sec 30 cycle Z-Taq	94°C 5min 98°C 5sec 50°C 5sec 72°C 10sec 30 cycle Z-Taq
増幅断片	781bp	1000bp
スクリーニング PCR の条件	94°C, 5min 98°C, 5sec 55°C, 80sec 30 cycle Z-Taq	94°C 5min 98°C 5sec 50°C 5sec 72°C 10sec 30 cycle Z-Taq
ジョー PCR の条件	94°C, 5min 1 cycle 98°C, 5sec 55°C, 80sec 50 cycle Z-Taq	94°C 5min 98°C 5sec 50°C 10sec 72°C 20sec 50 cycle Z-Taq

表 6

遺伝子名	acn	icd	lpd
5'→3'プライマー 3'→5'プライマー	GT1GGIACIGAYTCSCATAC (55) GC1GGAGAIATGTGRTCTGT (56)	GACATTTCACTCGCTGGACG (57) CCGTACTCTTCAGCCTTCTG (58)	ATCATCGCAACCGGTTTC (59) CGTCACCGATGGCGTAAAT (60)
部分断片 取得の PCR条件	94°C 1min 96°C 20sec 45°C 1min 68°C 2min 30 cycle EX-Taq	94°C 5min 98°C 5sec 55°C 80sec 30 cycle Z-Taq	94°C 5min 98°C 5sec 50°C 10sec 72°C 20sec 30 cycle Z-Taq
増幅断片	1500bp	1500bp	500bp
スクリーニング・PCR コピ-PCR の条件	同 上	同 上	94°C 5min 94°C 30sec 57°C 1min 72°C 1min 30 cycle Ex-Taq TACGAGGAGCAGATCCTCAA (63) TTGACGCCGGTGTCTCCAG (64)
スクリーニング・PCR 5'→3'プライマー 3'→5'プライマー			
LAクロニク (N') 3'→5'プライマー	S1:GGTGAAGCTAAGTAGTTAGC (65) S2:AGCTACTAAACCTGCACC (66)	S1:CCGTACTCTTCAGCCTTCTG (67) S2:TCGTCTTGTTCACATC (68)	S1:ATCATCGCAACCGGTTTC (69) S2:TACGAGGAGCAGATCCTCAA (70)
LAクロニク (C') 5'→3'プライマー	S1:GCTAACTACTTAGCTTCACC (71) S2:GAACCAGGAATATTGAACC (72)	S1:TCCGATGTCATCATCGAC (73) S2:ATGTGGAACAAGGACGAC (74)	
制限酵素	PstI(N') HindIII(C')	Sall(N') PstI(C')	HindIII
LAクロニク の条件	N' 94°C 1min 94°C 30sec 57°C 2min 72°C 2min 30 cycle LA-Taq C' 94°C 1min 94°C 30sec 57°C 2min 72°C 2.5min 30 cycle LA-Taq	94°C 1min 94°C 30sec 57°C 2min 72°C 2.5min 30 cycle LA-Taq	94°C 1min 94°C 30sec 57°C 2min 72°C 1min 30 cycle LA-Taq

表 7

遺伝子名	odhA		
5' → 3' プライマー	ACACCGTGGTCGCCTCAACG (61)		
3' → 5' プライマー	TGCTAACCCGTCCCACCTGG (62)		
部分断片 取得の PCR条件	94°C 5min 98°C 5sec 66°C 2sec 30 cycle Z-Taq		
増幅断片	1306bp		
LAコーニング (N°)	S1:GTACATATTGTCGTTAGAACGCGTAATACGACTCA (75)		
5' → 3' プライマー	S2:CGTTAGAACGCGTAATACGACTCACTATAGGGAGA (76)		
制限酵素	XbaI		
LAコーニング の条件	1 回目	94°C 30sec 55°C 2min 72°C 1min 30cycle LA-Taq	
	2 回目	94°C 1min 98°C 20sec 68°C 15min 30 cycle 72°C 10min LA-Taq	

< 3 > P C Rによるプラスミドライブラリーのスクリーニング

前記のプラスミドライブラリーから目的の遺伝子を含むクローンを、P C Rにより選択した。プラスミドライブラリーから、コロニーを60個ずつピックアップし、2枚ずつのLB寒天培地プレートにレプリカした。各プレートのコロニー60個ずつをまとめて、4mlのLB液体培地を含む試験管に接種し、15時間培養した後、プロメガ社製プラスミドDNA抽出キットを用いてそれぞれプラスミドの混合物を取得した。このプラスミド混合物を鋳型とし、各目的遺伝子毎に作製したスクリーニング用プライマーを用いて、各表中に「スクリーニングPCRの条件」として示した条件でP C Rを行い、染色体DNAを鋳型とするP C Rと同じ大きさのDNA断片が増幅されるクローンを選択した。

増幅されたDNA断片は、パーキンエルマー社製ビッグダイ・ダイターミネーターサイクルシーケンスキットを用いて塩基配列を決定し、既知の遺伝子情報との相同性を比較することにより、目的遺伝子の取得の成否を確認した。

尚、1 p dについては、＜2＞で作製したプライマーでは目的のDNA断片が増幅されなかったため、決定された塩基配列に基づいて、スクリーニング用プライマーを別途作製した。

＜4＞コロニーPCRによる目的遺伝子保持クローンの選択

目的の遺伝子断片の増幅が確認されたプラスミド混合物が由来するプレートを用いて、コロニーPCRを行い、遺伝子断片を含むクローンを選択した。コロニーPCRは、表2～7に示す条件で行った。

選択された形質転換体からプラスミドDNAを回収し、挿入DNA断片の塩基配列を決定した。挿入DNA断片に目的遺伝子の全長が挿入されておらず、遺伝子の上流域、下流域またはこれらの両方が欠失している場合は、判明した塩基配列を利用してプライマーを作製し、TaKaRa LA PCR in vitro Cloning Kit（宝酒造（株））を用いて、目的遺伝子の全領域の遺伝子断片を取得し、塩基配列を決定した。

LA PCRクローニングの概要は以下のとおりである。挿入DNA断片のうち2つの領域の塩基配列を有する2種のプライマーを作製する。コリネバクテリウム・サーモアミノグネスAJ12310株の染色体DNAを各種制限酵素で切断し、各制限酵素に対応したカセットプライマーと連結する。これを鋳型として、作製されたプライマーのうち欠失部分から遠い位置に対応するプライマー（S1）と、カセットプライマーの外側の位置に対応するカセットプライマー（C1）を用いてPCRを行う。次に、作製されたプライマーのうち欠失部分に近い位置に対応するプライマー（S2）と、カセットプライマーの内側の位置に対応するカセットプライマー（C2）を用いてPCRを行う。こうして、欠失部分を含むDNA断片が得られる。得られたDNA断片と既に取得されているDNA断片を連結することにより、目的遺伝子全長を含むDNA断片を得ることができる。尚、カセットの5'末端にはリン酸基が付いていないので、DNA断片の3'末端とカセットの

5'末端との接続部位にはニックができる。そのため、1回目のPCRではプライマーC1からのDNA合成はこの接続部分でストップし、非特異的な増幅は起こらないため、特異的な増幅を行うことができる。

LA PCRクローニングに用いたプライマーと反応条件は、表2～7に示した。表中「(N')」は上流側の欠失部分のクローニングに用いたプライマーを、「(C')」は下流側の欠失部分のクローニングに用いたプライマーを、それぞれ示す。また、PCR反応はLA PCRクローニングキットの説明書に従い、2回行った。表に示したプライマーのうち、上段には1回目の反応に用いたプライマー(S1)を、下段には2回目の反応に用いたプライマー(S2)を示す。

上記のようにして得られた各遺伝子を含むDNA断片の塩基配列を、前記と同様にして決定した。それらの塩基配列及び同塩基配列がコードし得るアミノ酸配列を、配列番号1～34に示す。各配列番号に記載された配列は、後記〔配列表の説明〕に示したとおりである。

scrBについては、オープン・リーディング・フレームが見つからなかった。コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株は、インベルターゼ活性を有しておらず、シュークロース資化性を持たないため、シュークロース資化性を有するコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12340株及びAJ12309株から、同様にしてscrB遺伝子断片を取得した。その結果、いずれの株からもオープン・リーディング・フレームを有するDNA断片が得られた。

実施例2 gdh、及びgltA遺伝子の取得

<1>コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのGDH活性の検討

CM-2B寒天培地（イーストエキストラクト（Difco社製）1g/dl、ポリペプトン（日本製薬製）1g/dl、NaCl 0.5g/dl、ビオチン 10 μ g/dl、寒天 1.5g/dl、pH 7.0（KOHで調整））で生育させたコリネバクテリウム・サーモアミノゲネス野生株であるAJ12310株の菌体を、下記組成のフラスコ用培地を20ml入れた500ml容フラスコに接種し、37℃で17時間（残糖が1g/dl程度になるまで）培養した。

同様に、CM-2B寒天培地で生育させたブレビバクテリウム・ラクトファーメンタム2256株（ATCC13869）の菌体を31.5℃で17時間培養した。

〔フラスコ用培地〕

グルコース	3	g/dl
KH ₂ PO ₄	0.1	g/dl
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.04	g/dl
FeSO ₄ ·7H ₂ O	1	mg/dl
MnSO ₄ ·4H ₂ O	1	mg/dl
ビタミンB1-HCl	200	μg/L
ビオチン	50	μg/L
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.5	g/dl
大豆蛋白加水分解液	48	mg/dl
(Memeno(T-N))		
CaCO ₃ (局方)	5	g/dl (別殺菌)
pH 8.0 (KOHで調整)		

上記培養液約 1 ml を 1000rpm で 1 分遠心して CaCO₃ を除去した後、菌体を 200mM K-リン酸緩衝液 (pH6.9) で 2 回洗浄し、同緩衝液 300 μl に懸濁させた。得られた菌体懸濁液を 5 分間超音波処理して菌体を破碎した後、1000rpm で 30 分遠心し、上清を粗酵素液として得た。

上記粗酵素液を用いて GDH 活性の至適反応温度及び熱安定性を調べた。GDH 活性の測定は、反応液 (100mM Tris-HCl (pH8.0)、20mM NH₄Cl、10mM α-ケトグルタル酸ナトリウム、0.25mM NADPH) に粗酵素液を加え、340nm における吸光度の変化を測定することによって行った。また、粗酵素液のタンパク質濃度を、Bradford 法 (Bio-Rad Protein Assay Kit を使用) により、ウシ血清アルブミンを標準として、595nm での吸光度を測定することによって定量した。吸光度の測定は、HITACHI U-2000 (日立製作所製) を用いて行った。

種々の反応温度で測定した GDH 活性を、図 1 に示す。ATCC13869 株では、37℃ 付近で最も GDH の比活性が高く、42℃ 付近で活性が著しく低下するのに対し、AJ123 10 株では 42℃ 付近で最も比活性が高く、45℃ でも活性を示した。

次に、GDH の熱安定性を調べた。反応前に、粗酵素液を 0 ～ 30 分間 65℃ におい

た後、30℃における酵素活性を測定した。その結果を図2に示す。この結果から明らかなように、ATCC13869株のGDHは5分間の熱処理で失活したのに対し、AJ12310株のGDHは30分間の熱処理でも活性が維持された。尚、AJ12310株の粗酵素液は、少なくとも65℃、90分の熱処理後にもGDH活性にほとんど変化が認められなかった（データは示さない）。

<2> コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのCS活性の検討

実施例1と同様にコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株の菌体及びブレビバクテリウム・ラクトファーマンタムATCC13869株から調製した粗酵素液を用いて、CSの反応至適温度及び熱安定性を調べた。CS活性の測定は、反応液（100mM Tris-HCl (pH 8.0), 0.1mM DTNB (5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)), 200mM L-グルタミン酸ナトリウム、0.3mM アセチルCo-A）に粗酵素液を加え、412nmにおける吸光度の変化を測定することによって行った。

種々の反応温度で測定したCS活性を、図3に示す。ATCC13869株では23℃付近で最もCSの比活性が高く、33℃付近で活性が著しく低下するのに対し、AJ12310株では37℃付近までは反応温度に依存して高い比活性を示し、40℃でも37℃における活性の約4割の活性を示した。

次に、CSの熱安定性を調べた。反応前に、粗酵素液を33～55℃で5分間おいた後、30℃における酵素活性を測定した。その結果を図4に示す。ATCC13869株のCSは35～40℃の熱処理で失活したのに対し、AJ12310株のCSは50℃の熱処理でも約4割の活性が維持された。

<3> コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのgdh遺伝子の取得

すでに報告されている種々の微生物のgdh遺伝子の塩基配列の比較を行った。そして、塩基配列がよく保存されている領域を見出し、その領域の塩基配列に基づいて配列番号77及び78に示す塩基配列を有するプライマーを作製した。

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株からBacterial Genome DNA Purification Kit (Advanced Genetic Technologies社製)を用いて調製した染色体DNAを鋳型とし、前記プライマーを用いてPCRを行った。得られたDNA断片をもとに、TaKaRa LA PCR in vitro Cloning Kit (宝酒造(株)製)を用いてゲノ

ムウォーキングを行い、gdh遺伝子全体を取得し、全塩基配列を決定した。結果を配列番号79に示す。また、この塩基配列から予想されるアミノ酸配列を配列番号80に示す。

同様にして、ブレビバクテリウム・ラクトファーマメンタムATCC13869株のgdh遺伝子を取得し、塩基配列を決定した。結果を配列番号81に示す。また同塩基配列によってコードされるアミノ酸配列を配列番号82に示す。

上記のようにして決定されたコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株とブレビバクテリウム・ラクトファーマメンタムATCC 13869株のgdh遺伝子の塩基配列及びGDHのアミノ酸配列と、公知のコリネバクテリウム・グルタミカム (*C. glutamicum*) ATCC13032株のgdh遺伝子及びGDHのアミノ酸配列 (Molecular Microbiology (1992) 6, 317-326) との相同性を調べた。結果を表8 (塩基配列) 及び表9 (アミノ酸配列) に示す。

表8 各種gdh遺伝子の塩基配列の相同性

	ATCC13869	ATCC13032	AJ12310
ATCC13869	—	94.5%	82.4%
ATCC13032	—	—	78.1%
AJ12310	—	—	—

表9 各種GDHのアミノ酸配列の相同性

	ATCC13869	ATCC13032	AJ12310
ATCC13869	—	90.8%	91.7%
ATCC13032	—	—	83.4%
AJ12310	—	—	—

<4>コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのgltA遺伝子の取得

すでに報告されている種々の微生物のgltA遺伝子の塩基配列の比較を行った。そして、塩基配列がよく保存されている領域を見出し、その領域の塩基配列の基

づいて配列番号 8 3 及び 8 4 に示す塩基配列を有するプライマーを作製した。

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株 (FERM BP-1542) から Bacterial Genome DNA Purification Kit (Advanced Genetic Technologies社製) を用いて調製した染色体DNAを鋳型とし、前記プライマー 7、8 を用いてPCRを行い、増幅した約0.9kbの塩基配列を決定した。

得られたコリネバクテリウム・グルタミカムのgltA遺伝子の塩基配列 (Microbiol., 140, 1817-1828 (1994)) をもとに、配列番号 8 5、8 6、8 7、及び 8 8 のプライマーを作成し、上記と同様にAJ12310の染色体DNAを鋳型にし、配列番号 8 5、8 6、8 7、及び 8 8 のプライマーを用いてPCRを行い、増幅したDNA断片の塩基配列を決定し、gltA遺伝子全体の全塩基配列を決定した。結果を配列番号 8 9 に示す。また、この塩基配列から予想されるアミノ酸配列を配列番号 9 0 に示す。

同様にして、プレビバクテリウム・ラクトファーマンタム2256株のgltA遺伝子を取得し、塩基配列を決定した。結果を配列番号 9 1 に示す。また同塩基配列によってコードされるアミノ酸配列を配列番号 9 2 に示す。

上記のようにして決定されたコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株とプレビバクテリウム・ラクトファーマンタムATCC13869株のgltA遺伝子の塩基配列及びCSのアミノ酸配列と、公知のコリネバクテリウム・グルタミカム (Microbiol., 140, 1817-1828 (1994)) ATCC13032株のgltA遺伝子及びCSのアミノ酸配列との相同性を調べた。結果を表 1 0 (塩基配列) 及び表 1 1 (アミノ酸配列) に示す。

表 1 0 各種gltA遺伝子の塩基配列の相同性

	ATCC13869	ATCC13032	AJ12310
ATCC13869	—	99.5%	85.7%
ATCC13032	—	—	85.6%
AJ12310	—	—	—

表 1 1 各種CSのアミノ酸配列の相同性

	ATCC13869	ATCC13032	AJ12310
ATCC13869	—	99.3%	92.1%
ATCC13032	—	—	92.1%
AJ12310	—	—	—

実施例 3 コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのscrB遺伝子の取得

実施例 1 に示したように、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12309株からscrB遺伝子断片が得られたので、同遺伝子の全配列の取得を行った。まず、実施例 1 と同様にして、配列番号 4 5 及び配列番号 4 6 に示すプライマーを用いて部分断片の取得を行った。これらのプライマーは、ブレビバクテリウム・ラクトファーマメンタム2256株のscrB配列（特開平08-196280）をもとに合成した。

一方、AJ12309株からBacterial Genome DNA Purification Kit(Advanced Genetic Technologies Corp.)を用いて染色体を調製した。この染色体DNAを0.5 μ g、前記プライマーを各々50pmol、dNTP mixture（各2.5mM）4 μ l、10 \times Z-Taq Buffer（宝酒造）5 μ l、Z-Taq 2U（宝酒造）に滅菌水を加えて全量50 μ lのPCR反応液を調製した。この反応液を用いて、サーマルサイクラーGeneAmp PCR System 9600（PE）を使用して、変性98 $^{\circ}$ C 5秒、会合50 $^{\circ}$ C 10秒、伸長反応72 $^{\circ}$ C 20秒の条件で30サイクルのPCRを行い、scrBの部分断片約600bpを増幅した。

次にLA PCR in vitro Cloning Kit（宝酒造）を用いてscrB全配列を決定した。方法はすべて、LA PCR in vitro Cloning Kitに従った。取得した部分配列をもとに、配列番号 9 7、9 8、9 9、1 0 0 に示すプライマーを合成した。上流部分の配列決定のための1回目のPCR反応は、配列番号 9 5、9 7 に示すプライマーを、鋳型DNAとしてEcoT14Iで処理したAJ12309株染色体DNAを用いた。2回目のPCR反応は、配列番号 9 6、9 8 に示すプライマーを用いた。下流部分の配列決定のための1回目のPCR反応は、配列番号 9 5、9 9 に示すプライマーを、鋳型DNAとしてSalI（宝酒造）で処理したAJ12309株染色体DNAを用いた。2回目のPCR

反応は、配列番号 96、100 に示すプライマーを用いた。以上の操作から、scrB の ORF を含む全長 1656bp の配列を決定した。この塩基配列を配列番号 93 に、アミノ酸配列を配列番号 94 に示す。

実施例 4 イソシトレートリアーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、ホスホエノール
ピルビン酸カルボキシラーゼ、アコニターゼ、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ、
2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼの熱安定性の検討

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス由来の下記の酵素について、熱安定性を調べた。尚、本実施例では、タンパク質濃度は、Bradford法 (Bio-Rad Protein Assay Kit を使用) により、標準タンパク質に牛血清アルブミンを用いて測定した。また、吸光度の測定は、特記しない限り HITACHI U-2000 (日立製作所) を用いて行った。

<1>イソシトレートリアーゼ

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310 株由来イソシトレートリアーゼ (以下、「ICL」ともいう) とブレビバクテリウム・ラクトファーマンタム 256 株 (ATCC13869) 由来 ICL の活性の熱安定性を調べた。活性測定には、表 12 に示した培地にて完全に糖を消費し尽くす前に培養を終了させた菌体を用いた。活性測定方法は、Dieter J. Reinscheid et al., J. Bacteriol., 176(12), 3474 (1994) に従った。具体的には、菌体を 50mM トリス緩衝液 (pH7.3) にて洗浄後、同バッファーに懸濁し、超音波破碎 (KUBOTA 社製 INSONATOR201M を使用、200W、5分) を行った。超音波破碎後、遠心分離 (13000×g、30分) を行い、未破碎菌体を取り除いたものを粗酵素液とした。

50mM MOPS-NaOH (pH7.3)、5mM ジチオスレイトール、15mM MgCl₂、1mM EDTA、5mM D-threo-isocitrate、0.2mM NADH、18U LDH (ラクテートデヒドロゲナーゼ) を含む反応系に粗酵素液を添加し、各温度 (30、40、50、60、70℃) における 340nm の吸収を日立分光光度計 U-3210 にて測定した。反応温度を変化させた測定結果を図 5 に示す。また、粗酵素液を 50℃ にて前処理 (前処理時間 5 分、又は 15 分) し、37℃ における活性を測定した結果を図 6 に示す。

その結果、2256株のICLは50℃近辺に最大活性を示すのに対し、AJ12310株のICLは60℃で最大活性を示した。また、2256株のICLは前処理時間5分で完全に失活しているのに対し、AJ12310株のICLは前処理時間5分では約半分の活性を維持していたことから、AJ12310株のICLの高温での安定性が確認された。

表 1 2 ICL活性測定用培地組成

成分	濃度
(NH ₄) ₂ SO ₄	5g/l
Urea	5g/l
KH ₂ PO ₄	0.5g/l
K ₂ HPO ₄	0.5g/l
MOPS	20.9g/l
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.25g/l
CaCl ₂ ・7H ₂ O	10mM
CuSO ₄ ・7H ₂ O	0.2mg/l
ビオチン	0.2mg/l
MnSO ₄ ・7H ₂ O	10mg/l
FeSO ₄ ・7H ₂ O	10mg/l
ZnSO ₄ ・7H ₂ O	1mg/l
酢酸	4%

< 2 > ホスホフルクトキナーゼ

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株由来ホスホフルクトキナーゼ（以下、「PFK」ともいう）とブレビバクテリウム・ラクトファーマンタム2256株由来PFKの活性の熱安定性について調べた。活性測定には、表 1 3 に示した培地にて完全に糖を消費し尽くす前に培養を終了させた菌体を用いた。活性測定方法は、Michiko Mori et al., Agric. Biol. Chem., 51(10), 2671 (1994)) に従った。具体的には、菌体を0.1M トリス緩衝液 (pH7.5) にて洗浄後、同緩衝液に懸濁し、超音波破碎 (KUBOTA社製 INSONATOR201Mを使用、200W、5分) を行った。超音波破碎後、遠心分離 (13000×g、30分) を行い、未破碎菌体を取り除いたものを粗酵素液とした。

100mM トリス緩衝液 (pH7.5)、0.2mM NADH、10mM MgCl₂、2mM NH₄Cl、10mM KC

1、0.2mM ホスホエノールビルビン酸、6.4mM フルクトース 6 リン酸、1mM ATP、40 μ g LDH/PK（ビルビン酸キナーゼ）を含む反応系に粗酵素液を添加し、各温度（30、40、50、60、70°C）における340nmの吸収を日立分光光度計U-3210にて測定した。反応温度を変化させた測定結果を図7に示す。また、粗酵素液を50°Cにて前処理（前処理時間1、3、5、10分）し、37°Cにおける活性を測定した結果を図8に示す。

以上の結果、2256株のPFKは30°C近辺で最大活性を示すことに対し、AJ12310株のPFKは50°C近辺で最大活性を示したことから、AJ12310のPFK株の至適温度は高温域にあることが確認された。

表 1 3 PFK活性測定用培地組成

成分	濃度
ポリペプトン	20g/l
酵母エキス	20g/l
塩化ナトリウム	5g/l
グルコース	20g/l

< 3 > ホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株由来ホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ（以下、「PEPC」ともいう）とブレビバクテリウム・ラクトファーマンタム2256株由来のPEPC活性の熱安定性について検討した。

CM-2B寒天培地で生育させたAJ12310株の菌体を、フラスコ用培地（グルコース 8g/dl、KH₂PO₄ 0.1g/dl、MgSO₄・7H₂O 0.04g/dl、FeSO₄・7H₂O 1mg/dl、MnSO₄・4H₂O 5mg/dl、(NH₄)₂SO₄ 3g/dl、TN（大豆タンパク質加水分解液） 48mg/dl、ビタミンB1 200 μ g/l、ビオチン 300 μ g/l、GD-113（消胞剤） 50 μ l/l、CaCO₃ 5g/dl（局方、別殺菌）、pH8.0（KOHで調整））を20ml入れた500ml容フラスコに接種し、37°Cで培養した。同様に、CM-2B寒天培地で生育させた2256株の菌体を31.5°Cで培養した。

対数増殖期まで生育させた上記培養液を1000rpmで1分間遠心してCaCO₃を除去した後、菌体を洗浄緩衝液（100mM Tris/HCl pH8.0、10mM MgSO₄、1mM DTT、20% glycerol）で3回洗浄、超音波で破碎し、15krpmで10分間遠心し破砕片を除去し、上清をさらに60krpmで1時間遠心し、上清を粗酵素液として得た。

上記粗酵素液を用いてPEPC活性の至適反応温度及び熱安定性を調べた。PEPC活性の測定は、反応液（100mM Tris/H₂SO₄(pH8.5)、5mM ホスホエノールピルビン酸、10mM KHCO₃、0.1mM acetyl-CoA、0.15mM NADH、10mM MgSO₄、10Uリンゴ酸脱水素酵素、0.1mM DTT）に粗酵素液を添加し、反応液量800μl中で340nmにおける吸光度の変化を測定することによって行った。

種々の反応温度で測定したPEPC活性を図9に示す。2256株では40℃で活性が著しく低下するのに対し、AJ12310株では40℃でも活性の低下はほとんど認められなかった。

次に、PEPCの熱安定性を調べた。反応前に、粗酵素液を0～20分間45℃においた後、20℃における酵素活性を測定した。その結果を図10に示す。この結果から明らかなように、2256株では10分間の熱処理後にはPEPC活性はほとんど失われてしまったが、AJ12310株では20分間の熱処理後でも活性は維持されていた。

これらの結果からAJ12310のPEPCの高温での安定性が示された。

< 4 > アコニターゼ

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株由来アコニターゼ（以下、「ACN」ともいう）とブレビバクテリウム・ラクトファーマンタム2256株由来ACNを測定し、その熱安定性について検討した。

CM-2B寒天培地で生育させたAJ12310株の菌体を、< 3 >と同じ組成のフラスコ用培地を20ml入れた500ml容フラスコに接種し、37℃で培養した。同様に、CM-2B寒天培地で生育させた2256株の菌体を31.5℃で培養した。

対数増殖期まで生育させた上記培養液を1000rpmで1分間遠心してCaCO₃を除去した後、菌体を50mM Tris/HCl pH7.5で3回洗浄、超音波で破碎し、15krpmで10分間遠心した上清を粗酵素液として得た。

上記粗酵素液を用いてACN活性の至適反応温度及び熱安定性を調べた。ACN活性

の測定は反応液 (20mM Tris/HCl(pH7.5)、50mM NaCl、20mM isocitrate·3Na) に粗酵素液を添加し反応液量800 μ l中で240nmにおける吸光度の変化を測定することによって行った。

種々の反応温度で測定したACN活性を図11に示す。AJ12310株はより高温において2256株よりも高い活性を示した。

次に、ACNの熱安定性を調べた。反応前に、粗酵素液を0～15分間50℃においた後、30℃における酵素活性を測定した。その結果を図12に示す。この結果から明らかなように、AJ12310株のACNは2256株のACNよりも熱処理による活性の低下が少なかった。

これらの結果からAJ12310のACNの高温での熱安定性が確認された。

<5> イソクエン酸デヒドロゲナーゼ

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株由来イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (以下、「ICDH」ともいう) とブレビバクテリウム・ラクトファーマンタム2256株由来ICDHの活性の熱安定性について検討した。

CM-2B寒天培地で生育させたAJ12310株の菌体を、<3>と同じ組成のフラスコ用培地を20ml入れた500ml容フラスコに接種し、37℃で培養した。同様に、CM-2B寒天培地で生育させた2256株の菌体を31.5℃で培養した。

対数増殖期まで生育させた上記培養液を1000rpmで1分間遠心してCaCO₃を除去した後、菌体を50mM Tris/HCl pH7.5で3回洗浄、超音波で破碎し、15krpmで10分間遠心した上清を粗酵素液として得た。

上記粗酵素液を用いてICDH活性の至適反応温度及び熱安定性を調べた。ICDH活性の測定は反応液 (35mM Tris/HCl、0.35mM EDTA (pH7.5)、1.5mM MnSO₄、0.1mM NADP、1.3mM isocitrate·3Na) に粗酵素液を添加し反応液量800 μ l中で340nmにおける吸光度の変化を測定することによって行った。

種々の反応温度で測定したICDH活性を図13に示す。2256株では70℃で活性が著しく低下するのに対し、AJ12310株では70℃でも活性の低下はほとんど認められなかった。

次に、ICDHの熱安定性を調べた。反応前に、粗酵素液を0～15分間45℃におい

た後、30℃における酵素活性を測定した。その結果を図14に示す。この結果から明らかなように、2256株では15分間の熱処理後には15%ほどのICDHの活性が残存するだけであったが、AJ12310株では約60%のICDHの活性が残存していた。

これらの結果から、AJ12310のICDHの高温での熱安定性が示された。

< 6 > 2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株由来2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ（以下、「ODHC」ともいう）とブレビバクテリウム・ラクトファーマメンタム2256株由来ODHCを測定し、その熱安定性について調べた。

活性測定には、表14に示した培地にて完全に糖を消費し尽くす前に培養を終了させた菌体を用いた。活性測定方法は、Isamu Shiio et al., Agric. Biol. Chem., 44(8), 1897 (1980)) に従った。具体的には、菌体を0.2% 塩化カリウムにて洗浄後、100mM TES-NaOH (pH7.5)、30% グルセロール溶液に懸濁し、超音波破碎（KUBOTA社製 INSONATOR201Mを使用、200W、5分）を行った。超音波破碎後、遠心分離（10000×g、30分）を行い、未破碎菌体を取り除いたものをSephadex-G25を用いて、同バッファーにてゲルろ過することによって調製したものを粗酵素液とした。

100mM TES-NaOH(pH7.7)、5mM MgCl₂、0.2mM Coenzyme A、0.3mM コカルボキシラーゼ、1mM α-ケトグルタル酸、3mM L-システイン、1mM アセチルピリジン-アデニン-ジヌクレオチドを含む反応系に粗酵素液を添加し、各温度（30、40、50、60、70℃）における365nmの吸収を日立分光光度計U-3210にて測定した。粗酵素液を50℃にて前処理（前処理時間1、3、5、10分）し、37℃における活性を測定した結果を図15に示す。

その結果、2256株のODHCは前処理時間10分で完全に失活しているのに対し、AJ12310のODHCは前処理時間に関係なく、ほぼ一定の活性を有しており、高温処理に対する安定性が確認された。

表 1 4 ODHC活性測定用培地組成

成分	濃度
グルコース	80g/l
KH ₂ PO ₄	1g/l
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.4g/l
FeSO ₄ ・7H ₂ O	0.01g/l
MnSO ₄ ・7H ₂ O	0.05g/l
(NH ₄) ₂ SO ₄	30g/l
大豆蛋白加水分解物	480mg/l
サイアミン塩酸	200μg/l
ビオチン	300μg/l

実施例 5 scrB遺伝子導入によるシュークロース資化能の付与

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株は、インベルターゼ活性及びシュークロース資化性を持たないため、同株に、AJ12309株由来のscrB遺伝子を導入することによってシュークロースに対する資化能を付与できるのかを調べた。

< 1 > コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12309株由来scrB搭載プラスミドの作製

scrB遺伝子断片を取得するために、配列番号 9 3 に示す塩基配列をもとに、両端にSmaI配列を連結した配列番号 1 0 1、1 0 2 に示すプライマーを合成した。AJ12309株染色体DNAを0.5μg、前記オリゴヌクレオチドを各々50pmol、dNTP mixture (各2.5mM) 4μl、10× Pyrobest Buffer (宝酒造) 5μl、Pyrobest polymerase 2U (宝酒造) に滅菌水を加えて全量50μlのPCR反応液を調製した。この反応液を用いて、サーマルサイクラーGeneAmp PCR System 9600 (PE) を使用して、変性98℃ 10秒、会合55℃ 30秒、伸長反応72℃ 2分の条件で30サイクルのPCRを行い、scrB ORFを含む約1.7kbを増幅した。

次に、上記の増幅断片をSmaI (宝酒造) にて消化し、脱リン酸化処理したコリネ型細菌で機能する複製起点を搭載したプラスミドpSAC4をSmaIで切断したもの

と連結し、pSCR155を作製した。pSCR155の構築を図16に示す。なおpSAC4は、以下のようにして作製した。エシェリヒア・コリ用ベクターpHSG399（宝酒造(株)）をコリネ型細菌で自律複製可能にするために、既を取得されているコリネ型細菌で自律複製可能なプラスミドpHM1519(Miwa, k. et al., Agric. Biol. Chem., 48 (1984) 2901-2903)由来の複製起点（特開平5-7491号公報）を導入した。具体的には、pHM1519を制限酵素BamHIおよびKpnIで消化し、複製起点を含む遺伝子断片を取得し、得られた断片を宝酒造(株)製Blunting kitを用いて平滑末端化した後、Sallリンカー（宝酒造(株)製）を用いて、pHSG399のSallサイトに挿入し、pSAC4を得た。

< 2 > AJ12310株へのscrB遺伝子搭載プラスミドの導入

上記で作製したpSCR155、及び、ブレビバクテリウム・ラクトファーマンタム由来scrB遺伝子を搭載したプラスミドpSSM30BS（特開平08-196280号）を、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株に導入した。形質転換は、以下の手順で行った。菌体を、20%シュクロースを含むCM-2B培地に $OD_{660}=0.1$ となるように接種し、 $OD_{660}=0.3$ まで37℃で振盪培養した後、100 μ g/mlになるようにリゾチームを添加し、さらに2時間培養した。菌体を20%シュクロースで3回洗浄後、20%シュクロースに懸濁し、エシェリヒア・コリJM110から回収したプラスミドを加えよく混合し、電気パルス（18KV/cm 300msec）をかけ、DNAを導入した。20%シュクロースを含むCM-2B培地で一晚回復培養を行なった後、クロラムフェニコール5 μ g/mlを含むCM-2B寒天培地で形質転換体を選択した。具体的には、電気パルス法（特開平12-204236号）を用い、形質転換体の選択は5 μ g/mlのクロラムフェニコールを含むCM2Bプレート培地で、37℃にて行なった。その結果、ブレビバクテリウム・ラクトファーマンタム由来scrB搭載プラスミドpSSM30BSを保持する形質転換体は得られず、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス由来scrBを搭載したプラスミドpSCR155を保持する形質転換体のみが取得出来た。この株をAJ12310/pSCR155と命名した。

< 3 > AJ12310/pSCR155株のシュクロースを糖源とする培養評価

上記で作製したAJ12310/pSCR155を、表15に示す組成の培地に接種し、37℃

にて22時間振とう培養した。培養後の培地の吸光度（OD）及び残糖（RS）を測定した結果を表16に示す。その結果、AJ12310株は、シュークロースを資化出来ず、生育が不能であるのに対し、scrB遺伝子導入株AJ12310/pSCR155株はシュークロースを資化出来るようになったことが確認された。

表15 培地組成

培地組成	濃度
シュークロース	60g/l
KH ₂ PO ₄	1g/l
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.4g/l
FeSO ₄ ・7H ₂ O	0.01/l
MnSO ₄ ・7H ₂ O	0.01g/l
(NH ₄) ₂ SO ₄	30g/l
大豆蛋白加水分解物	480mg/l
サイアミン塩酸塩	200μg/l
ビオチン	300μg/l

表16 シュークロース培養結果

	OD(×51)	RS(g/l)
2256	1.292	0.00
AJ12310	0.058	60.00
AJ12310/pSCR155	1.571	0.84

実施例6 pdhA遺伝子増幅株によるL-グルタミン酸生産

<1> 由来pdhA搭載プラスミドpPDHA-2の構築

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株のpdhA遺伝子は、プラスミドライブラリのスクリーニングにより取得した。具体的には、プラスミドライブラリ混合物を鋳型として、実施例1の表4に示した条件にてPCRを行い、染色体DNAを鋳型とするPCRと同じ大きさのDNA断片が増幅されるクローンp21Aを選択

した。このプラスミドのDNA配列を決定することによりpdhAの全長が含まれていることを確認した。

p21AをXbaI、KpnIで消化し、pdhA遺伝子の全長とプロモーター領域を含む4kbのDNA断片を切り出した。このpdhA遺伝子を含むDNA断片を、pHSG299（宝酒造）のXbaI、KpnIサイトに挿入した。次にこのプラスミドをXbaIで消化し、pXK4をXbaIで処理した断片を挿入してpPDHA-2を作成した。pPDHA-2の構築の過程を図17に示す。ライゲーション反応はDNA Ligation Kit Ver.2（宝酒造）を、遺伝子操作の宿主にはエシェリヒア・コリJM109株（宝酒造）を用いた。尚、前記pXK4は、以下のようにして作製した。コリネ型細菌とエシェリヒア・コリのシャトルベクターpHK4（特開平5-7491号）を制限酵素BamHI、KpnIで消化して、複製起点を持つDNA断片を取得して、得られた断片をDNA平滑末端化キット（宝酒造社製、Blunting Kit）を用いて平滑末端化したあと、XbaIリンカー（宝酒造社製）を結合し、pHSG299のXbaIサイトに挿入し、プラスミドpXK4を得た。

< 2 > AJ12310株へのpdhA遺伝子搭載プラスミドの導入

上記で作製したプラスミドpPDHA-2をコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株に導入し、pdhA遺伝子増幅株を作製した。形質転換は実施例5と同様に行い、形質転換体はカナマイシン25 μ g/mlを含むCM-2B寒天培地で選択し、AJ12310/pPDHA-2株を取得した。

< 3 > pdhA増幅株によるL-グルタミン酸生産

CM-2B寒天培地で生育させたAJ12310株、及び上記で取得したpdhA遺伝子増幅株AJ12310/pPDHA-2株を、表17に示す種培養フラスコ用培地を20ml入れた500ml容フラスコに接種し、37°Cでグルコースを完全消費するまで振盪培養した。この培養液を、表17に示す本培養フラスコ用培地を20ml入れた500ml容フラスコに2ml接種し、37°C及び44°Cにおいて本培養を行なった。本培養はグルコースを完全消費するまで行い、培養終了後、培養液のOD₆₂₀及びL-グルタミン酸の蓄積量を測定し、遺伝子増幅による菌体形成及びグルタミン酸の生産に対する効果を検討した。ODの測定は分光光度計HITACHI U-2000（日立製作所）を、L-グルタミン酸濃度の測定はグルタミン酸アナライザーAS-210（旭化成）を用いた。結果を図

18に示す。

pdhA遺伝子増幅株AJ12310/pPDHA-2株では、AJ12310株に比べ、L-グルタミン酸蓄積、ODともに上昇し、pdhA遺伝子の増幅がL-グルタミン酸生産に有効であることが明らかとなった。

表 17 pdhA増幅株評価培地

培地組成	種培養	本培養
グルコース	30g/l	60g/l
KH ₂ PO ₄	1g/l	1g/l
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.4g/l	0.4g/l
FeSO ₄ ・7H ₂ O	0.01g/l	0.01g/l
MnSO ₄ ・7H ₂ O	0.01g/l	0.01g/l
(NH ₄) ₂ SO ₄	15g/l	30g/l
大豆蛋白加水分解物	480mg/l	480mg/l
サイアミン塩酸塩	200μg/l	200μg/l
ビオチン	10μg/l	
AZ-20R (消泡剤)	20μl/l	20μl/l
CaCO ₃ (別殺菌)	50g/L	50g/L
pH8.0(KOHで調整)		

実施例 7 icd遺伝子増幅株によるL-グルタミン酸生産

<1> コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株由来icd搭載プラスミドpICD-4の構築

配列番号29記載のAJ12310株のicd遺伝子配列をもとに、配列番号103及び配列番号104に示すプライマーを合成した。この両プライマーの5'端にはBglI Iサイトを導入した。一方、Genomic DNA Purif. Kit (Edge BioSystems社)を用いて、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株のゲノムDNAを調製した。このゲノムDNAを鋳型として、上記プライマーをそれぞれ100pmol、dNTP mixture (各2.5mM) 8μl、10× Pyrobest Buffer II (宝酒造) 10μl、Pyrobest DNA polymerase (宝酒造) 2.5Uに滅菌水を加えて全量100μlのPCR反応液を調製した。この反応液を用いて、サーマルサイクラーTP240 (宝酒造) を使用して、変性98℃ 10秒、会合55℃ 1分、伸長反応72℃ 4分の条件で30サイクルのPCRを行

い、*icd*遺伝子及びそのプロモーターを含む3.3kbのDNA断片を増幅した。

この*icd*遺伝子を含むDNA断片をBglIIで処理し、pHSG299（宝酒造）のBamHIサイトに挿入した。次にこのプラスミドをXbaIで処理し、pXK4をXbaIで処理した断片を挿入してpICD-4を構築した。pICD-4の作製の手順は図19に示す。ライゲーション反応は、DNA Ligation Kit Ver.2（宝酒造）を、遺伝子操作の宿主にはエシェリヒア・コリJM109株（宝酒造）を用いた。

< 2 > AJ12310株への*icd*遺伝子搭載プラスミドの導入

上記で作製したプラスミドpICD-4を、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株に導入し、*icd*遺伝子増幅株を作製した。形質転換は、実施例5と同様に行い、形質転換体は、カナマイシン25 μ g/mlを含むCM-2B寒天培地で選択し、AJ12310/pICD-4株を取得した。

< 3 > *icd*増幅株によるL-グルタミン酸生産

AJ12310株、およびその*icd*増幅株であるAJ12310/pICDについて、実施例6記載の培養方法により培養評価を行った。結果を図20に示す。*icd*遺伝子増幅株AJ12310/pICD-4株では、野生株AJ12310株に比べ、L-グルタミン酸蓄積、ODともに上昇し、*icd*遺伝子の増幅はグルタミン酸生産に有効であることが示された。

実施例8 *gdh*遺伝子増幅株によるL-グルタミン酸生産

< 1 > コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス AJ12310株由来の*gdh*遺伝子搭載プラスミドの作製

配列番号79に記載のAJ12310株の*gdh*遺伝子の配列をもとに、配列番号105および配列番号106に示すプライマーを合成した。

一方、Bacterial Genome DNA Purification Kit (Advanced Genetic Technologies Corp.) を用いてAJ12310の染色体DNAを調製した。この染色体DNAを0.5 μ g、前記オリゴヌクレオチドをそれぞれ10pmol、dNTP mixture(各2.5mM)8 μ l、10 \times LA Taq Buffer（宝酒造）5 μ l、LA Taq（宝酒造）2Uに滅菌水を加えて全量50 μ lのPCR反応液を調製した。この反応液を用いて、サーマルサイクラーTP240（宝酒造）を使用して、変性94 $^{\circ}$ C 30秒、会合55 $^{\circ}$ C 1秒、伸長反応72 $^{\circ}$ C 3分の条件で30

サイクルのPCRを行ない、gdh遺伝子およびそのプロモーターを含む約2KbpのDNA断片を増幅した。得られた増幅断片をPstI（宝酒造社製）で消化し、これとpHSG299（宝酒造）をPstIで完全分解したものを混合し連結した。連結反応は宝酒造社製 DNA ligation kit ver2にて行なった。連結した後、エシェリヒア・コリJM109のコンピテントセル（宝酒造社製）を用いて形質転換を行い、IPTG（イソプロピル- β -D-チオガラクトピラノシド）10 μ g/ml、X-Gal（5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル- β -D-ガラクトシド）40 μ g/ml及びクロラムフェニコール40 μ g/mlを含むL培地（バクトトリプトン10g/l、バクトイーストエキストラクト5g/l、NaCl 5g/l、寒天15g/l、pH7.2）に塗布し、一晚培養後、出現した白色のコロニーを釣り上げ、単コロニー分離し、形質転換株を得た。

形質転換株からアルカリ法（生物工学実験書、日本生物工学会編、105頁、培風館、1992年）を用いてプラスミドを調製し、制限酵素地図を作成し、図21に示す制限酵素地図と同等であるものをpHSG299YGDHと名付けた。

このpHSG299YGDHにコリネ型細菌で機能する複製起点を導入した。具体的には、pXC4を制限酵素XbaIにて消化し、pHM1519由来の複製起点を含む断片を取得し、pHSG299YGDHをXbaIで完全分解したものと混合し連結した。上記と同様の方法でプラスミドを調製し、図21に示す制限酵素地図と同等であるものをpYGDHと名付けた。尚、pXC4は、pHSG299の代わりにpHSG399（Cm^r）を用いた以外は、実施例6に記載したpXK4と同様にして構築した。

< 2 > AJ12310株へのgdh遺伝子搭載プラスミドの導入

上記で作製したプラスミドを、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株に導入し、gdh遺伝子増幅株を作製した。形質転換は、実施例5と同様に行い、形質転換体はカナマイシン25 μ g/mlを含むCM-2B寒天培地で、31℃にて選択し、AJ12310/pYGDHを取得した。

< 3 > gdh増幅株によるL-グルタミン酸生産

CM-2B寒天培地で生育させたAJ12310株及び上記で取得したgdh遺伝子増幅株AJ12310/pYGDH株を、表18に示す種培養フラスコ用培地を20ml入れた500ml容フラスコに接種し、37℃でグルコースを完全消費するまで振盪培養した。この培養液

を、表 1 9 に示す本培養フラスコ用培地を20ml入れた500ml容フラスコに2ml接種し、37℃及び44℃において本培養を行なった。本培養はグルコースを完全消費するまで行い、培養終了後、培養液のOD₆₂₀及びL-グルタミン酸の蓄積量を測定し、遺伝子増幅による菌体形成及びグルタミン酸の生産に対する効果を検討した。ODの測定は分光光度計HITACHI U-2000（日立製作所）を、L-グルタミン酸濃度の測定はグルタミン酸アナライザーAS-210（旭化成）を用いた。

表 1 8 種培養培地組成

培地組成	濃度
グルコース	30 g/l
硫安	15 g/l
KH ₂ PO ₄	1 g/l
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.4 g/l
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.01 g/l
MnSO ₄ ·5H ₂ O	0.01 g/l
大豆蛋白加水分解物	0.48 g/l
サイアミン塩酸塩	200 ug/l
ビオチン	10 ug/l
AZ20R	0.02 ml/l
CaCO ₃ （別殺菌）	1 g/L
pH8.0(KOH)	

表 1 9 本培養培地組成

培地組成	濃度
グルコース	60 g/l
硫安	30 g/l
KH ₂ PO ₄	1 g/l
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.4 g/l
FeSO ₄ ・7H ₂ O	0.01 g/l
MnSO ₄ ・5H ₂ O	0.01 g/l
大豆蛋白加水分解物	0.48 g/l
サイアミン塩酸塩	200 ug/l
AZ20R	0.02 ml/l
CaCO ₃ (別殺菌)	1 g/L
pH8.0(KOH)	

培養結果を表 2 0、表 2 1 に示す。37℃では、gdh増幅株は、糖消費速度が、親株のAJ12310株と比較して速く、生育も良く、到達ODが上昇した。またL-グルタミン酸蓄積に関しても、収率に関しても37℃では3～5%と大幅に向上した。44℃においても収率が向上し、また到達ODも上昇した。一方、gdh増幅株では副生物である α -ケトグルタル酸の蓄積が減少していることが確認された。これらの結果から、gdhの増幅がL-グルタミン酸収率の向上および副生物の低減に有効であることが示された。

表 2 0 gdh増幅株の培養結果 (37℃)

	OD ₆₂₀ (51×)	L-Glu蓄積 (g/dl)	L-Glu収率 (%)	α -KG (mg/dl)
AJ12310	0.58	1.74	30.7	53.9
AJ12310/pYGDH	0.65	2.23	39.3	4.1

表 2 1 gdh増幅株の培養結果 (44℃)

	OD ₆₂₀ (51×)	L-Glu蓄積 (g/dl)	L-Glu収率 (%)
AJ12310	0.63	1.70	26.7
AJ12310/pYGDH	0.71	1.79	27.8

実施例 9 gltA遺伝子増幅株によるL-グルタミン酸生産

< 1 > コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス由来gltA遺伝子搭載プラスミドの作製

配列番号 8 9 記載のAJ12310株由来のgltA遺伝子の配列をもとに、配列番号 1 0 7 および配列番号 1 0 8 に示すプライマーを合成した。

一方、Bacterial Genome DNA Purification Kit(Advanced Genetic Technologies Corp.)を用いてコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310の染色体DNAを調製した。この染色体DNAを0.5 μ g、前記オリゴヌクレオチドをそれぞれ10p mol、dNTP mixture(各2.5mM)8 μ l、10 \times Pyrobest- Taq Buffer (宝酒造) 10 μ l、Pyrobest Taq (宝酒造) 2Uに滅菌水を加えて全量100 μ lのPCR反応液を調製した。この反応液を用いて、サーマルサイクラーTP240 (宝酒造) を使用して、変性94 $^{\circ}$ C 30秒、会合 45 $^{\circ}$ C 30秒、伸長反応72 $^{\circ}$ C 3分の条件で30サイクルのPCRを行ない、gltA遺伝子およびそのプロモーターを含む約2KbpのDNA断片を増幅した。得られた増幅断片をKpnI (宝酒造) で消化し、これとpHSG299 (宝酒造) をKpnIで完全分解したものを混合し連結した。連結反応は宝酒造社製 DNA ligation kit ver2 にて行なった。連結した後、エシェリヒア・コリJM109のコンピテントセル (宝酒造社製) を用いて形質転換を行い、IPTG (イソプロピル- β -D-チオガラクトピラノシド) 10 μ g/ml、X-Gal (5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル- β -D-ガラクトシド) 40 μ g/ml及びクロラムフェニコール40 μ g/mlを含むL培地 (バクトトリブトン10g/l、バクトイーストエキストラクト5g/l、NaCl 5g/l、寒天15g/l、pH7.2) に塗布し、一晚培養後、出現した白色のコロニーを釣り上げ、単コロニー分離し、形質転換株を得た。

形質転換株からアルカリ法（生物工学実験書、日本生物工学会編、105頁、培風館、1992年）を用いてプラスミドを調製し、制限酵素地図を作成し、図22に示す制限酵素地図と同等であるものをpHSG299YCSと名付けた。

このpHSG299YCSにコリネ型細菌内で複製出来る複製起点を導入した。具体的には、pXC4を制限酵素XbaIにて消化し、pHM1519の複製起点を含むDNA断片を取得し、pHSG299YCSをXbaIで完全分解したものと混合、連結した。上記と同様の方法でプラスミドを調製し、図22に示す制限酵素地図と同等であるものをpYCSと名付けた。

< 2 > AJ12310株へのgltA遺伝子搭載プラスミドの導入

上記で作製したプラスミドを、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスAJ12310株を導入し、gltA遺伝子増幅株を作製した。形質転換は、実施例5と同様に行い、形質転換体の選択は25 μ g/mlのカナマイシンを含むCM2B寒天培地で、31 $^{\circ}$ Cにて選択し、AJ12310/pYCSを取得した。

< 3 > gltA増幅株によるL-グルタミン酸生産

CM-2B寒天培地で生育させたAJ12310株及び上記で取得したgltA遺伝子増幅株AJ12310/pYCS株を、実施例8と同様にして培養した。培養結果を表22、表23に示す。CS増強株では、37 $^{\circ}$ C、44 $^{\circ}$ Cいずれの培養温度においても、親株よりL-グルタミン酸蓄積が向上していることが確認された。また、gltA増幅株はオキサロ酢酸から合成されるL-アスパラギン酸、L-リジンが減少していた。

以上の結果から、gltAの増幅がL-グルタミン酸の収率向上および副生物低減に有効であることが示された。

表22 gltA増幅株の培養結果（37 $^{\circ}$ C）

	L-Glu蓄積 (g/dl)	収率 (%)	L-Asp蓄積 (mg/dl)	L-lys蓄積 (mg/dl)
AJ12310	1.79	31.9	11.8	11.0
AJ12310/pYCS	2.04	36.5	8.1	7.3

表 2 3 gltA増幅株の培養結果 (44°C)

	OD	L-Glu蓄積 (g/dl)	収率 (%)	L-Asp蓄積 (mg/dl)	L-lys蓄積 (mg/dl)
AJ12310	0.58	1.38	21.8	23.3	29.2
AJ12310/pYCS	0.65	1.84	28.8	14.1	17.2

〔配列表の説明〕

配列番号 1 : aceA	塩基配列
配列番号 2 : aceA	アミノ酸配列
配列番号 3 : accBC	塩基配列
配列番号 4 : accBC	アミノ酸配列
配列番号 5 : dtsR1	塩基配列
配列番号 6 : dtsR1	アミノ酸配列
配列番号 7 : dtsR2	塩基配列
配列番号 8 : dtsR2	アミノ酸配列
配列番号 9 : pfk	塩基配列
配列番号 10 : pfk	アミノ酸配列
配列番号 11 : scrB(AJ12340株)	塩基配列
配列番号 12 : scrB(AJ12340株)	アミノ酸配列
配列番号 13 : scrB(AJ12309株)	塩基配列
配列番号 14 : scrB(AJ12309株)	アミノ酸配列
配列番号 15 : scrB(AJ12310株)	塩基配列
配列番号 16 : gluABCD	塩基配列
配列番号 17 : gluABCD	アミノ酸配列
配列番号 18 : gluABCD	アミノ酸配列
配列番号 19 : gluABCD	アミノ酸配列
配列番号 20 : gluABCD	アミノ酸配列
配列番号 21 : pdhA	塩基配列

配列番号22 :	pdhA	アミノ酸配列
配列番号23 :	pc	塩基配列
配列番号24 :	pc	アミノ酸配列
配列番号25 :	ppc	塩基配列
配列番号26 :	ppc	アミノ酸配列
配列番号27 :	acn	塩基配列
配列番号28 :	acn	アミノ酸配列
配列番号29 :	icd	塩基配列
配列番号30 :	icd	アミノ酸配列
配列番号31 :	lpd	塩基配列
配列番号32 :	lpd	アミノ酸配列
配列番号33 :	odhA	塩基配列
配列番号34 :	odhA	アミノ酸配列
配列番号79 :	gdh(AJ12310株)	塩基配列
配列番号80 :	gdh(AJ12310株)	アミノ酸配列
配列番号81 :	gdh(2256株)	塩基配列
配列番号82 :	gdh(2256株)	アミノ酸配列
配列番号89 :	gltA(AJ12310株)	塩基配列
配列番号90 :	gltA(AJ12310株)	アミノ酸配列
配列番号91 :	gltA(2256株)	塩基配列
配列番号92 :	gltA(2256株)	アミノ酸配列
配列番号93 :	scrB(AJ12309株)	塩基配列
配列番号94 :	scrB(AJ12309株)	アミノ酸配列

産業上の利用可能性

本発明により、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスのアミノ酸生合成系酵素をコードする遺伝子、又はアミノ酸の細胞内への取り込みに関与するタンパク質をコードする遺伝子が提供される。

本発明の遺伝子は、前記酵素又はタンパク質の製造、又はアミノ酸生産菌の育種に利用することができる。

請求の範囲

1. 配列番号2に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、50℃、5分の熱処理後に30%以上の残存活性を有するイソシトレートリアーゼ活性を有するタンパク質。

2. 配列番号4に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するアシルCoAカルボキシラーゼ活性に関与するタンパク質。

3. 配列番号6に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するDtsR活性を有するタンパク質。

4. 配列番号8に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するDtsR活性を有するタンパク質。

5. 配列番号10に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、60℃で30℃における活性と同等又はそれ以上のホスホフルクトキナーゼ活性を有するタンパク質。

6. 配列番号94に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスにシュークロース資化能を付与する活性を有するタンパク質。

7. 配列番号17～20に記載のアミノ酸配列のいずれかを有するタンパク

質、又は、前記アミノ酸配列のいずれかにおいて、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するグルタミン酸の取り込みに関与する機能を有するタンパク質。

8. 配列番号22に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するビルビン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

9. 配列番号24に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質。

10. 配列番号26に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、45℃、5分の熱処理後に50%以上の残存活性を有するホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質。

11. 配列番号28に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、50℃、3分の熱処理後に30%以上の残存活性を有するアコニターゼ活性を有するタンパク質。

12. 配列番号30に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、45℃、10分の熱処理後に50%以上の残存活性を有するイソクエン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

13. 配列番号32に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又

は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスに由来するジヒドロリボアミドデヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

14. 配列番号34に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、50℃、10分の熱処理後に30%以上の残存活性を有する2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

15. 配列表の配列番号80に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、42℃で37℃における活性と同等又はそれ以上のグルタミン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

16. 配列表の配列番号90に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、37℃で23℃における活性と同等又はそれ以上のクエン酸シンターゼ活性を有するタンパク質。

17. 配列番号2に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、イソシトレートリアーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

18. 下記(a1)又は(b1)に示すDNAである請求項17記載のDNA。

(a1) 配列表の配列番号1に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b1) 配列表の配列番号1に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、イソシトレートリアーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

19. 配列番号4に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は

逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、アシルC o - Aカルボキシラーゼ活性に関与するタンパク質をコードするDNA。

20. 下記(a2)又は(b2)に示すDNAである請求項19記載のDNA。

(a2) 配列表の配列番号3に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b2) 配列表の配列番号3に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、アシルC o - Aカルボキシラーゼ活性に関与するタンパク質をコードするDNA。

21. 配列番号6に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、D t s R活性を有するタンパク質をコードするDNA。

22. 下記(a3)又は(b3)に示すDNAである請求項21記載のDNA。

(a3) 配列表の配列番号5に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b3) 配列表の配列番号5に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、D t s R活性を有するタンパク質をコードするDNA。

23. 配列番号8に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、D t s R活性を有するタンパク質をコードするDNA。

24. 下記(a4)又は(b4)に示すDNAである請求項23記載のDNA。

(a4) 配列表の配列番号7に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b4) 配列表の配列番号7に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、D t s R活

性を有するタンパク質をコードするDNA。

25. 配列番号10に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ホスホフルクトキナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

26. 下記(a5)又は(b5)に示すDNAである請求項25記載のDNA。

(a5) 配列表の配列番号9に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b5) 配列表の配列番号9に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ホスホフルクトキナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

27. 配列番号93に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、インペルターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

28. 下記(a6)又は(b6)に示すDNAである請求項27記載のDNA。

(a6) 配列表の配列番号93に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b6) 配列表の配列番号93に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、インペルターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

29. 配列番号17～20に記載のアミノ酸配列のいずれかを有するタンパク質、又は、前記アミノ酸配列のいずれかにおいて、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、グルタミン酸の取り込みに関与する機能を有するタンパク質、をコードするDNA。

30. 下記(a7)又は(b7)に示すDNAである請求項29記載のDNA

A。

(a 7) 配列表の配列番号 1 6 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 7) 配列表の配列番号 1 6 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、グルタミン酸の取り込みに関与する機能を有するタンパク質をコードする DNA。

3 1. 配列番号 2 2 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ビルビン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

3 2. 下記 (a 8) 又は (b 8) に示す DNA である請求項 3 1 記載の DNA。

(a 8) 配列表の配列番号 2 1 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 8) 配列表の配列番号 2 1 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ビルビン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

3 3. 配列番号 2 4 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

3 4. 下記 (a 9) 又は (b 9) に示す DNA である請求項 3 3 記載の DNA。

(a 9) 配列表の配列番号 2 3 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 9) 配列表の配列番号 2 3 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ビルビン

酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

35. 配列番号26に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

36. 下記(a10)又は(b10)に示すDNAである請求項35記載のDNA。

(a10) 配列表の配列番号25に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b10) 配列表の配列番号25に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

37. 配列番号28に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、アコニターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

38. 下記(a11)又は(b11)に示すDNAである請求項37記載のDNA。

(a11) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b11) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、アコニターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

39. 配列番号30に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ活性

を有するタンパク質をコードするDNA。

40. 下記(a12)又は(b12)に示すDNAである請求項39記載のDNA。

(a12) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b12) 配列表の配列番号27に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

41. 配列番号32に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、ジヒドロリボアミドデヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

42. 下記(a13)又は(b13)に示すDNAである請求項41記載のDNA。

(a13) 配列表の配列番号31に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b13) 配列表の配列番号31に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、ジヒドロリボアミドデヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

43. 配列番号34に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

44. 下記(a14)又は(b14)に示すDNAである請求項43記載のDNA。

(a14) 配列表の配列番号33に記載の塩基配列からなる塩基配列を含むDNA。

(b 1 4) 配列表の配列番号 3 3 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

4 5. 配列表の配列番号 8 0 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、4 2℃で 3 7℃における活性と同等又はそれ以上のグルタミン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

4 6. 下記 (a 1 5) 又は (b 1 5) に示す DNA である請求項 4 5 記載の DNA。

(a 1 5) 配列表の配列番号 7 9 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 1 5) 配列表の配列番号 7 9 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、4 2℃で 3 7℃における活性と同等又はそれ以上のグルタミン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

4 7. 配列表の配列番号 9 0 に記載のアミノ酸配列を有するタンパク質、又は、同アミノ酸配列において、1 若しくは数個のアミノ酸の置換、欠失、挿入、付加、又は逆位を含むアミノ酸配列からなり、かつ、3 7℃で 2 3℃における活性と同等又はそれ以上のクエン酸シンターゼ活性を有するタンパク質をコードする DNA。

4 8. 下記 (a 1 6) 又は (b 1 6) に示す DNA である請求項 4 7 記載の DNA。

(a 1 6) 配列表の配列番号 8 9 に記載の塩基配列からなる塩基配列を含む DNA。

(b 1 6) 配列表の配列番号 8 9 に記載の塩基配列又は同塩基配列から調製されるプライマーとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ、3 7℃

で 23℃における活性と同等又はそれ以上のクエン酸シンターゼ活性を有するタンパク質をコードするDNA。

49. L-アミノ酸生産能を有し、かつ、請求項17～48のいずれか一項に記載のDNAが導入された微生物を培地に培養し、L-アミノ酸を培地に生成蓄積させ、該培地よりL-アミノ酸を採取することを特徴とするL-アミノ酸の製造法。

1 / 15

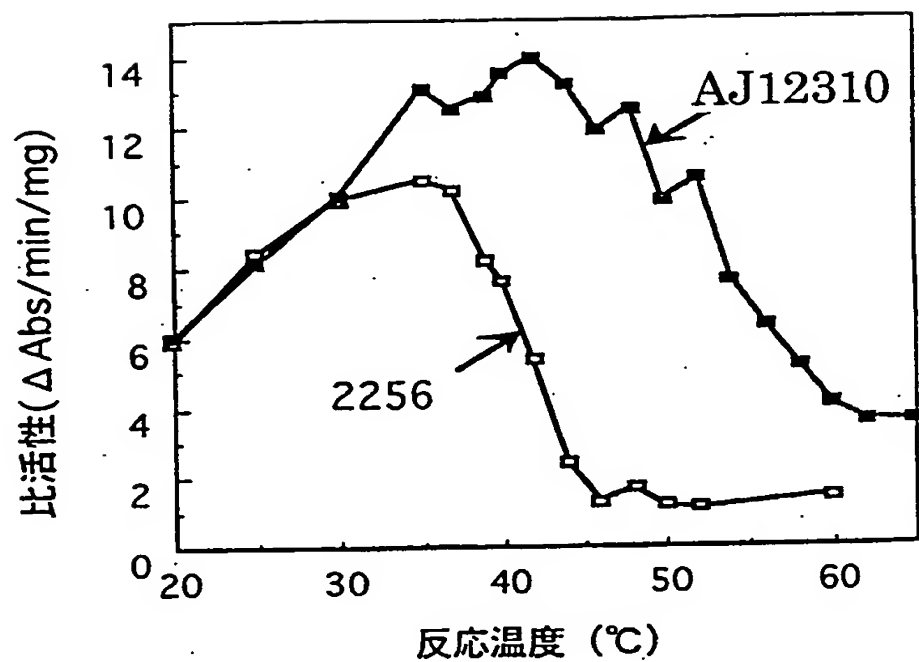


Fig. 1

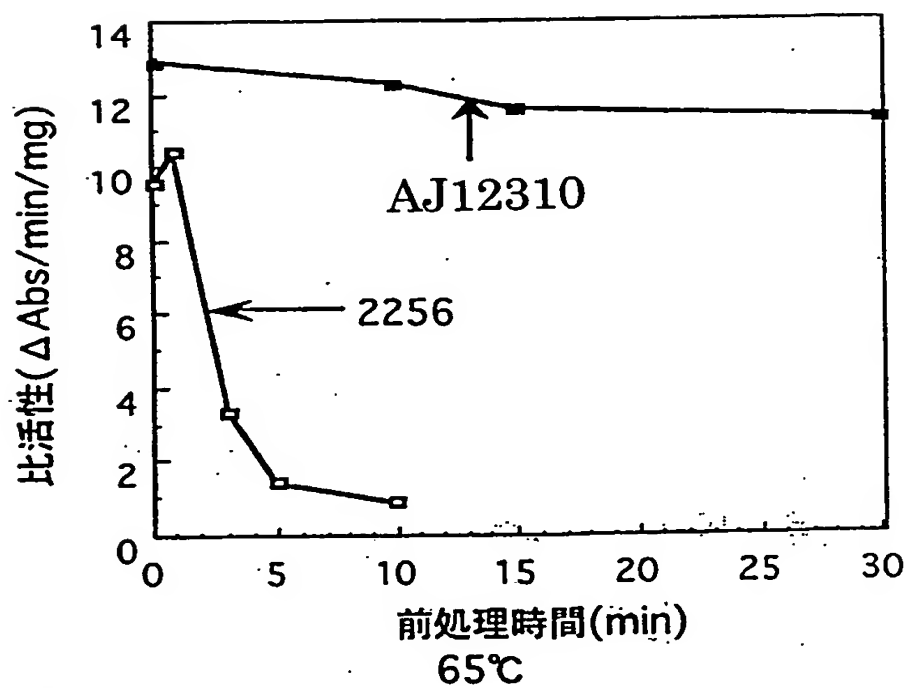


Fig. 2

THIS PAGE BLANK (USPTO)

2 / 15

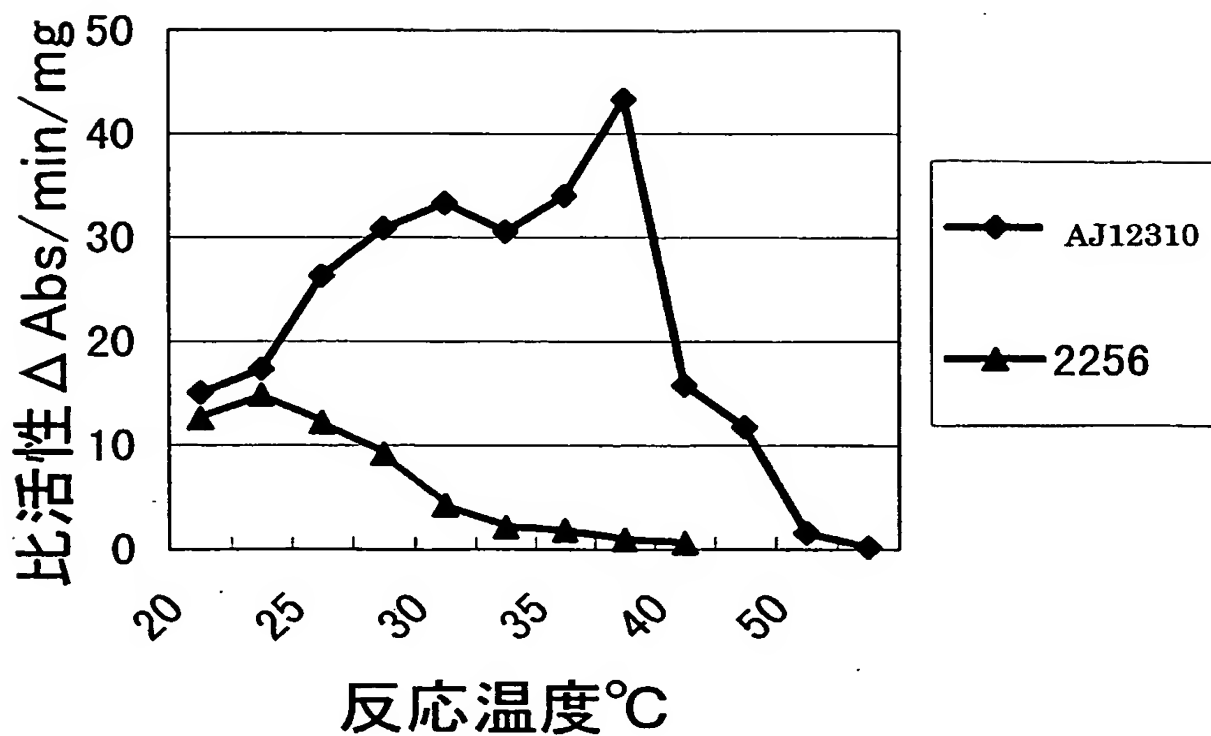


Fig. 3

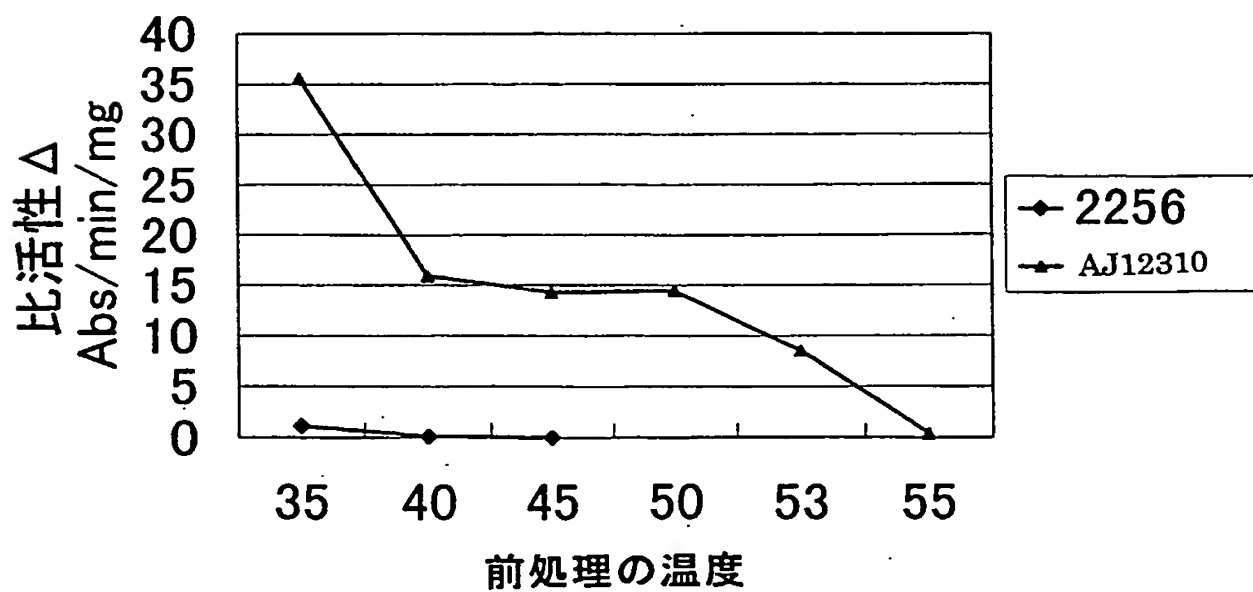


Fig. 4

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 5

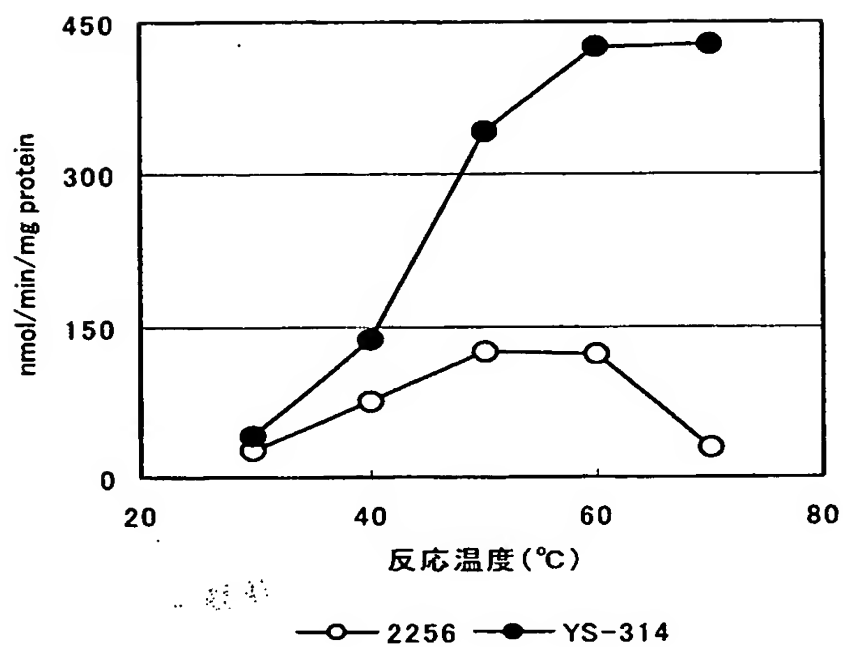
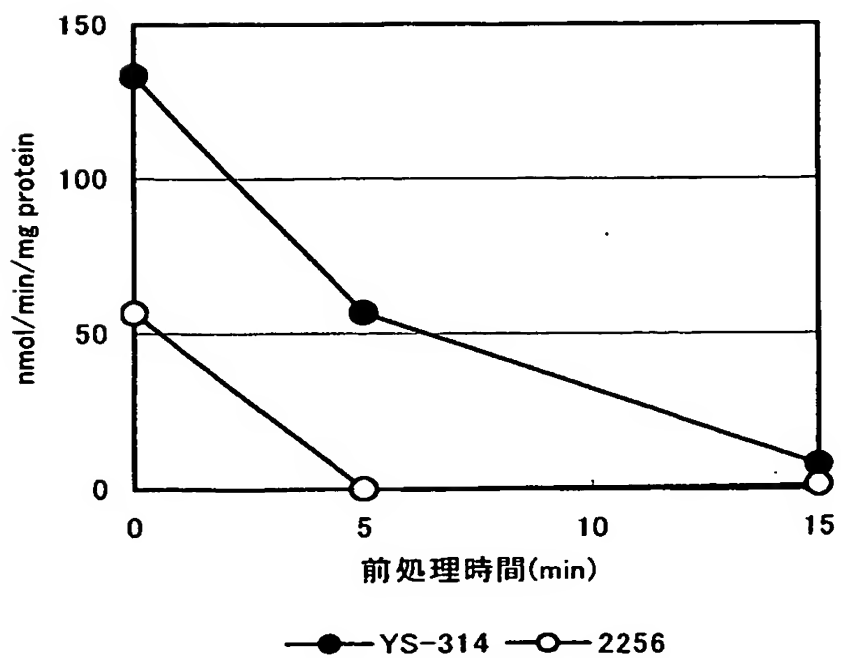


Fig. 6



"S PAGE BLANK (USPTO)

4 / 15

Fig. 7

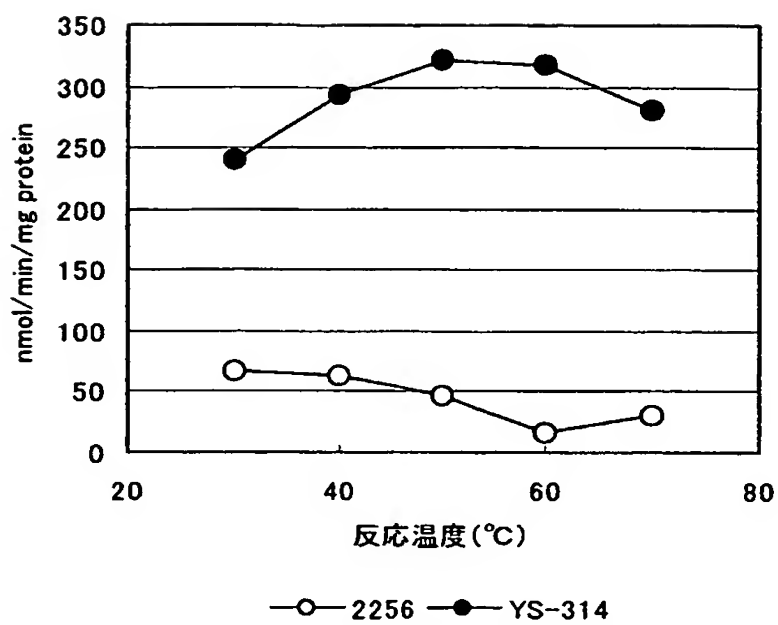
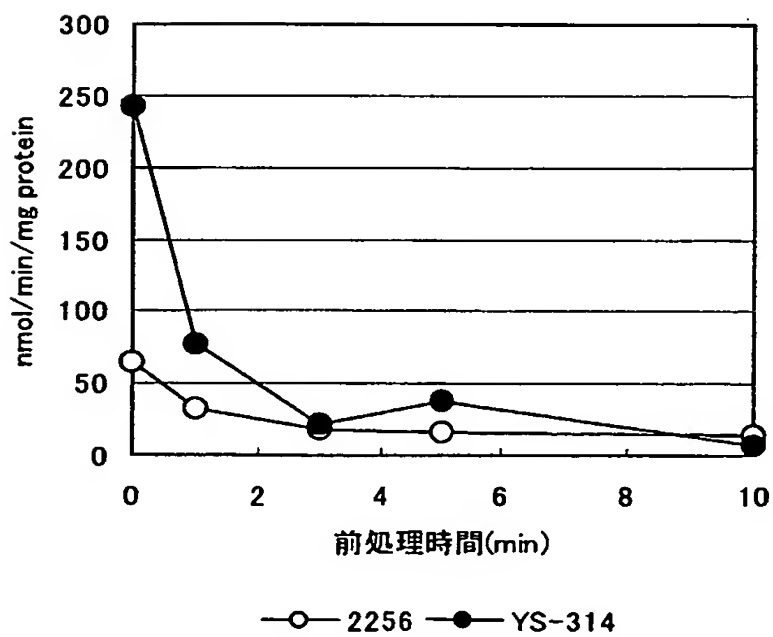


Fig. 8



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 9

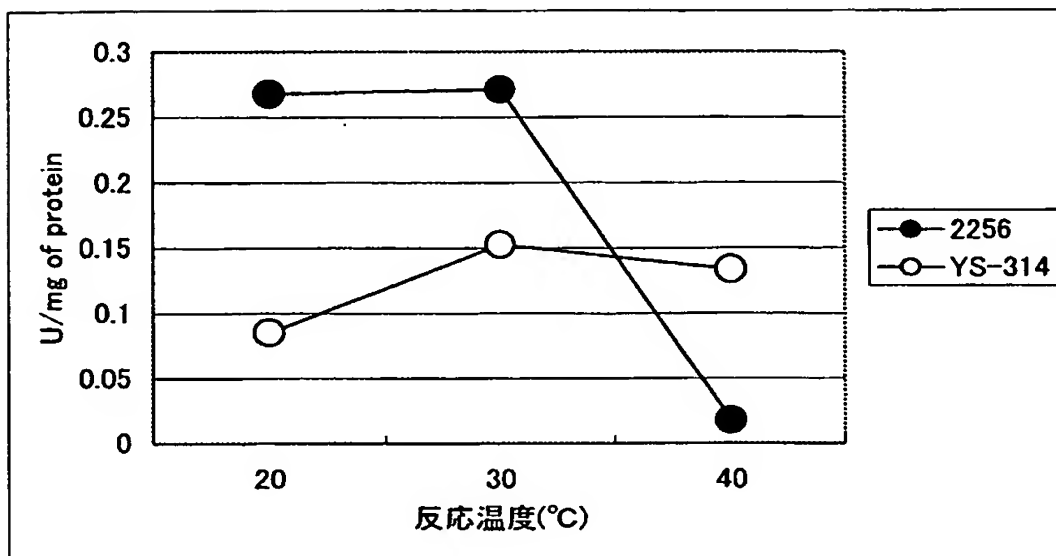
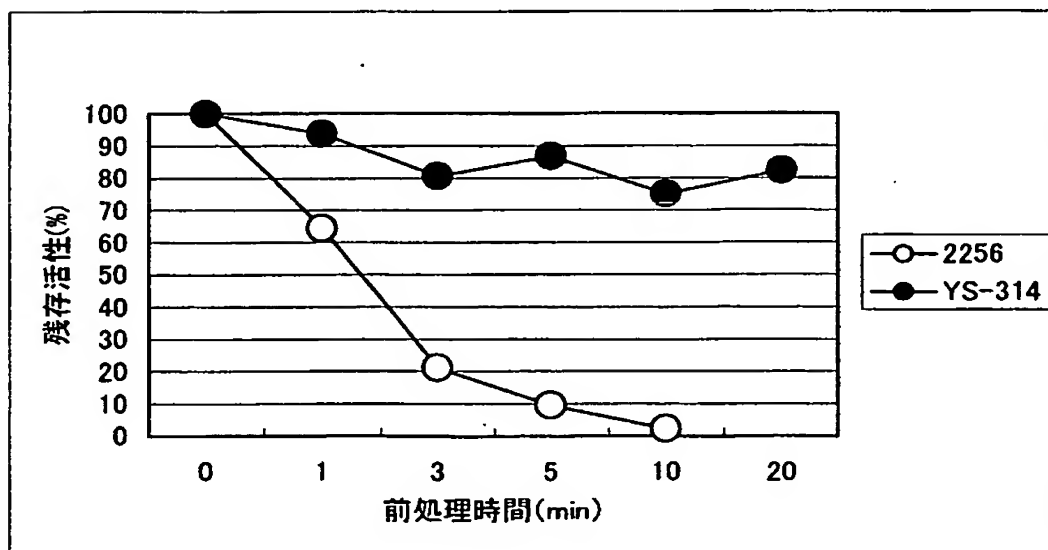


Fig. 10



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 11

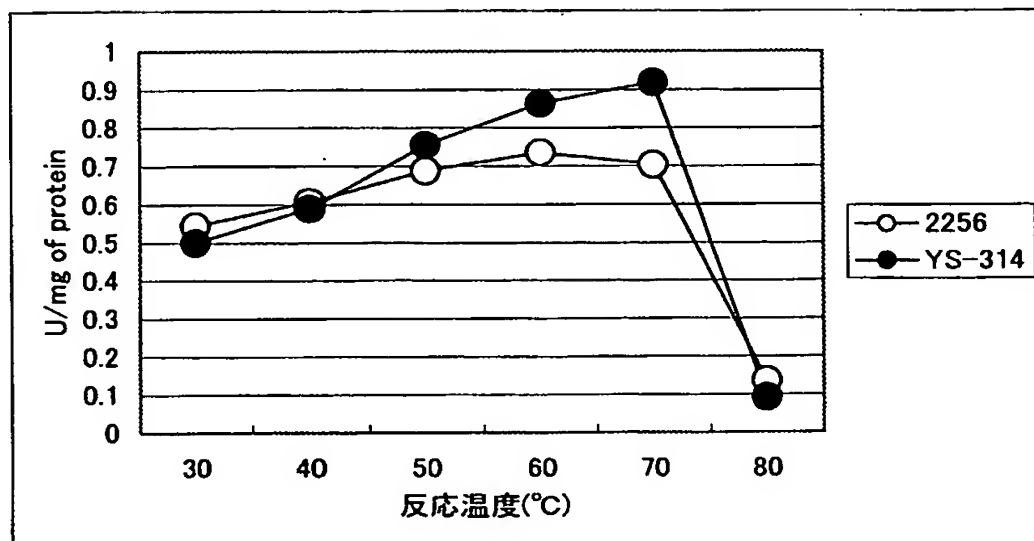
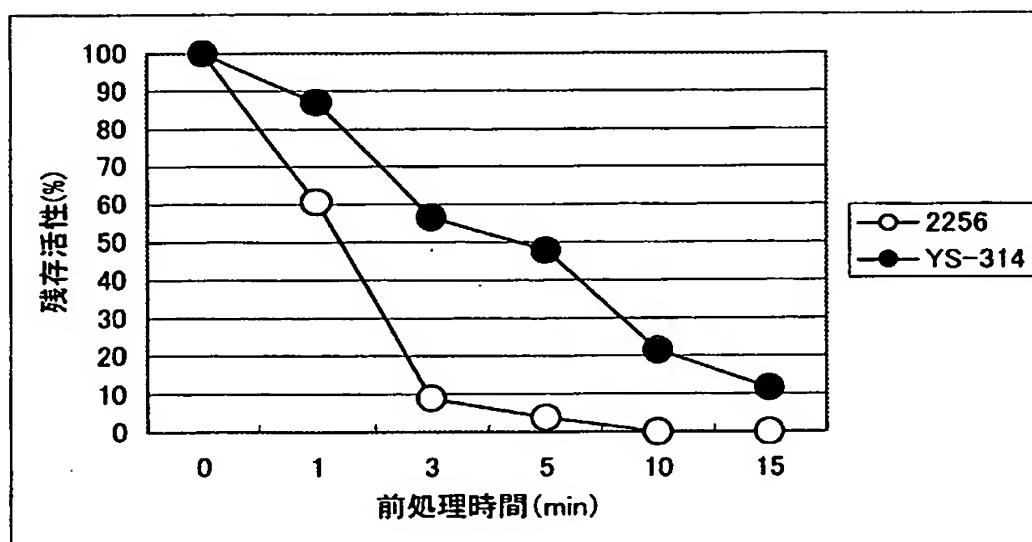


Fig. 12



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 13

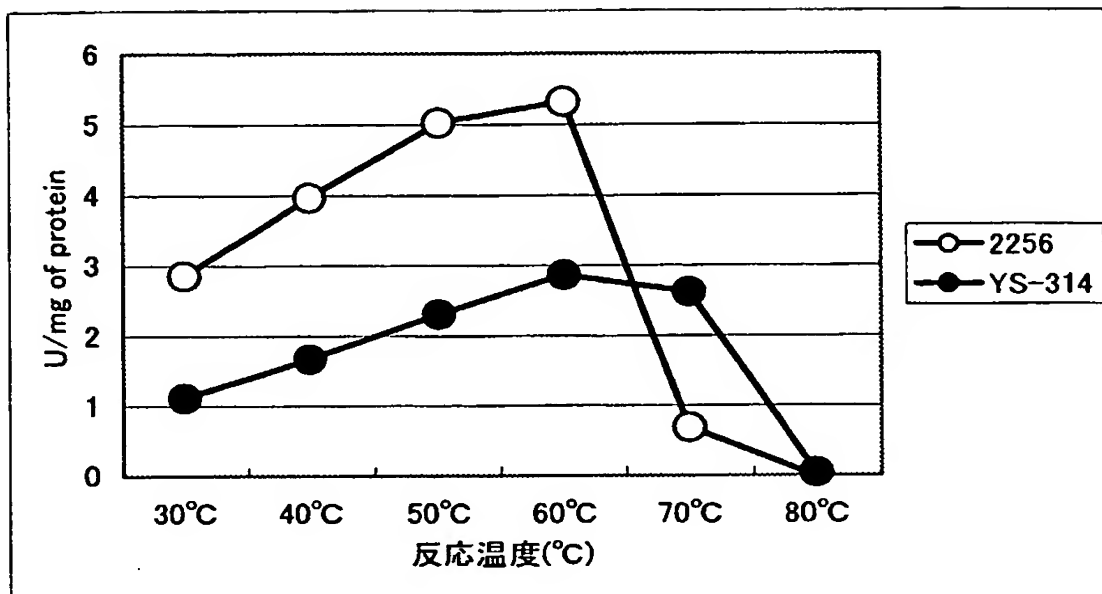
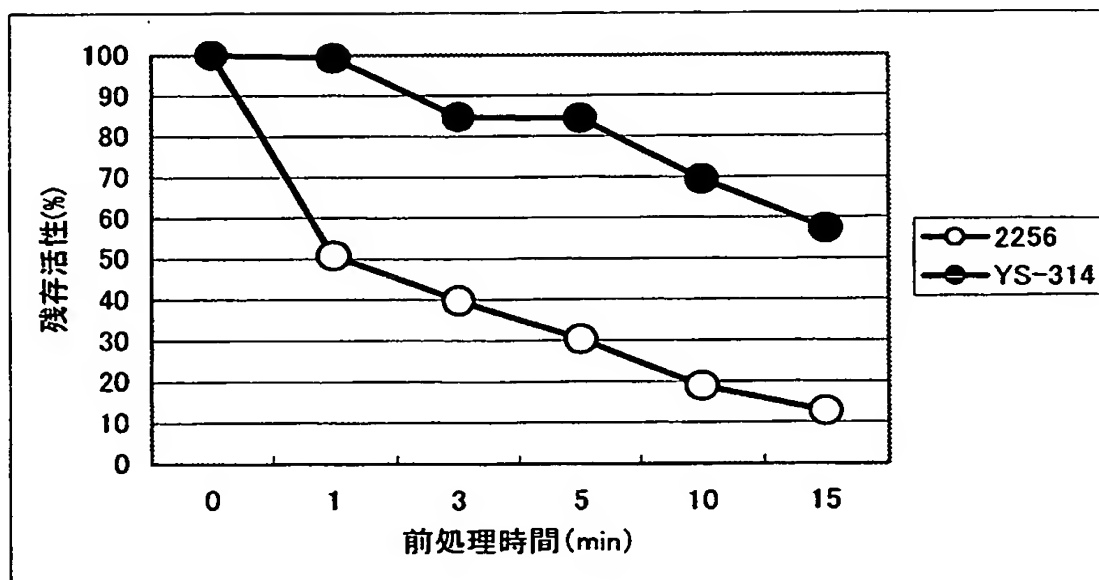
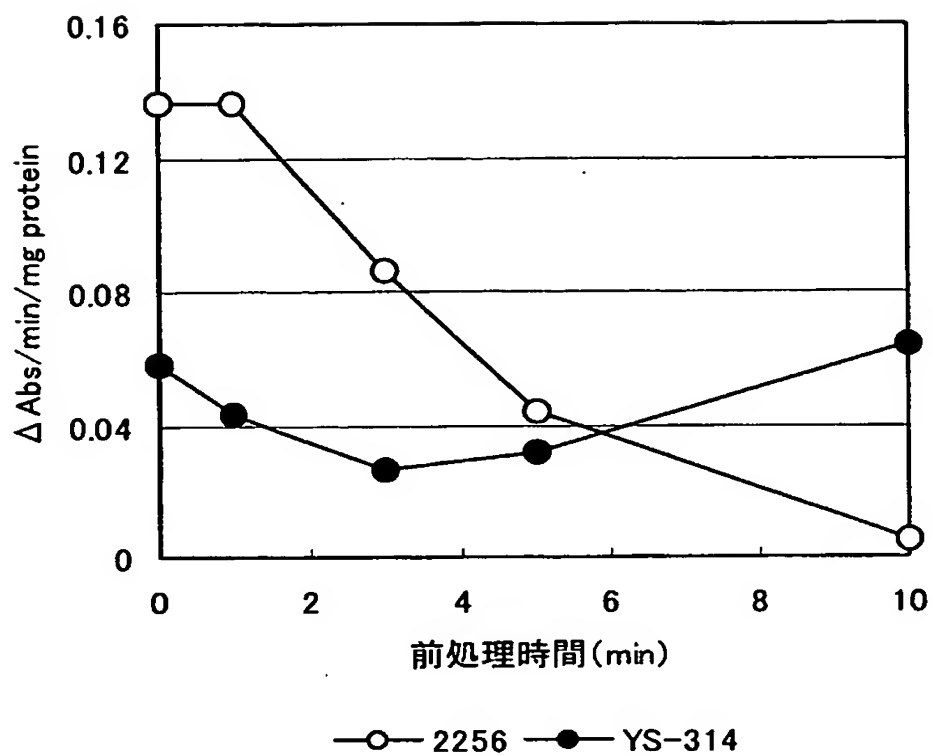


Fig. 14



THIS PAGE BLANK (USPTO)

8 / 15

*Fig. 15*

THIS PAGE BLANK (USPTO)

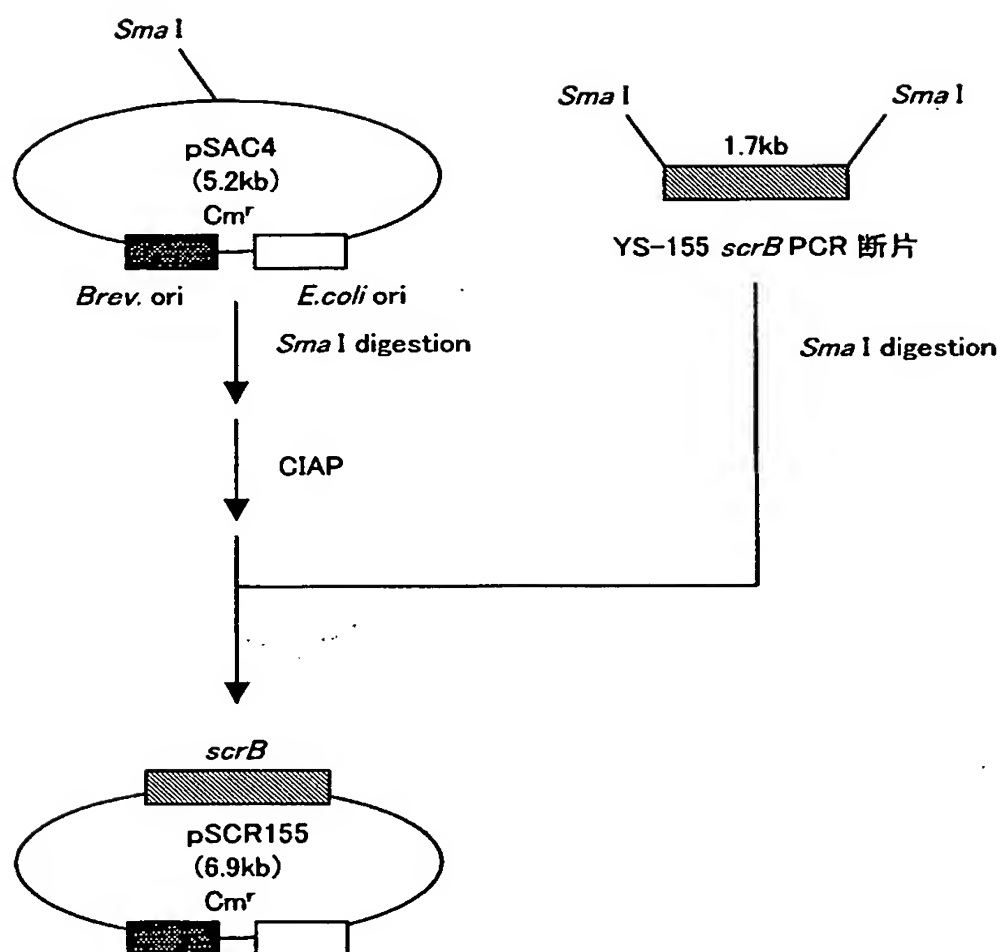


Fig. 16

THIS PAGE BLANK (USPTO)

10 / 15

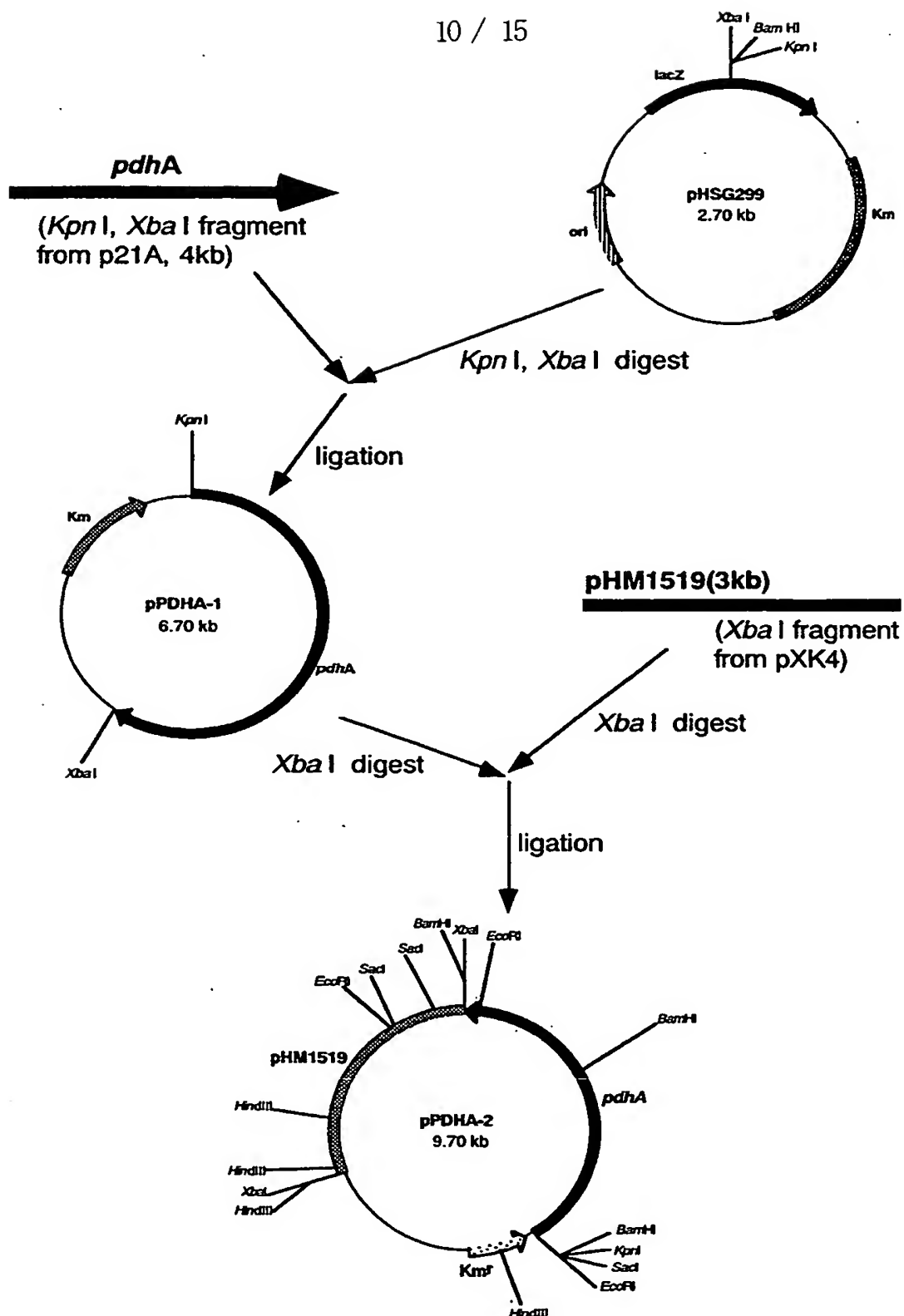


Fig. 17

THIS PAGE BLANK (USPTO)

11 / 15

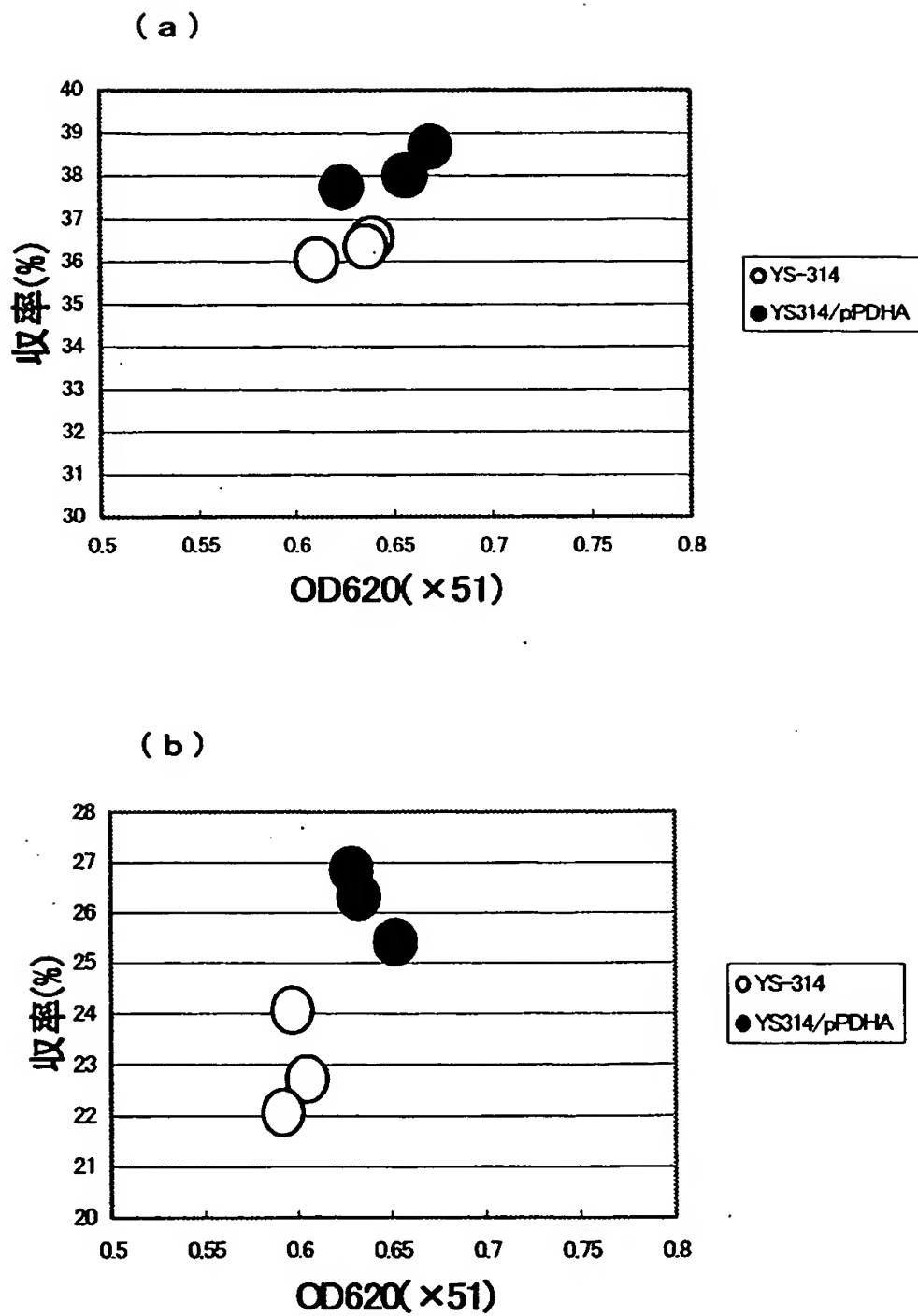


Fig. 18

THIS PAGE BLANK (USPTO)

12 / 15

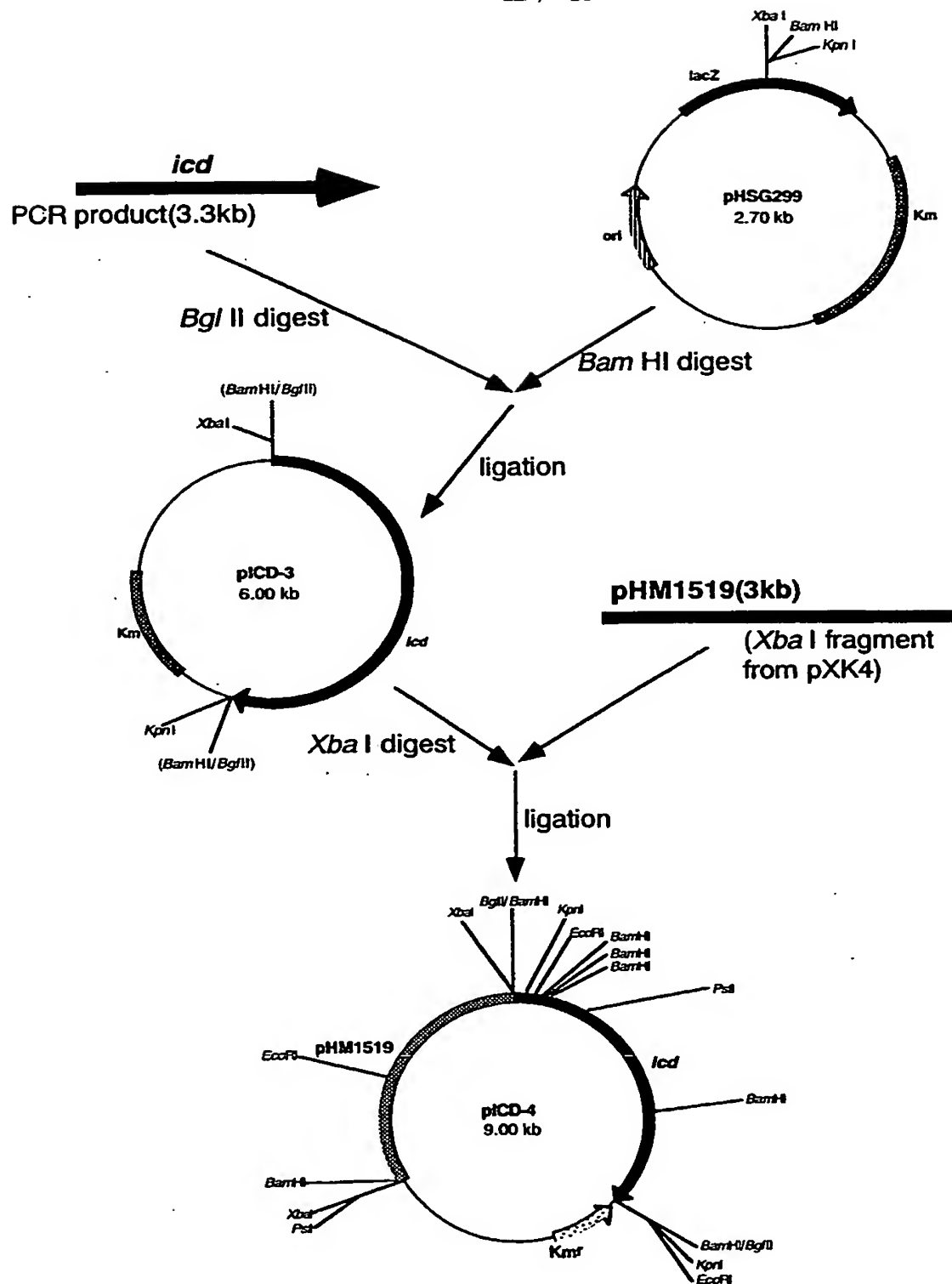


Fig. 19

THIS PAGE BLANK (USPTO)

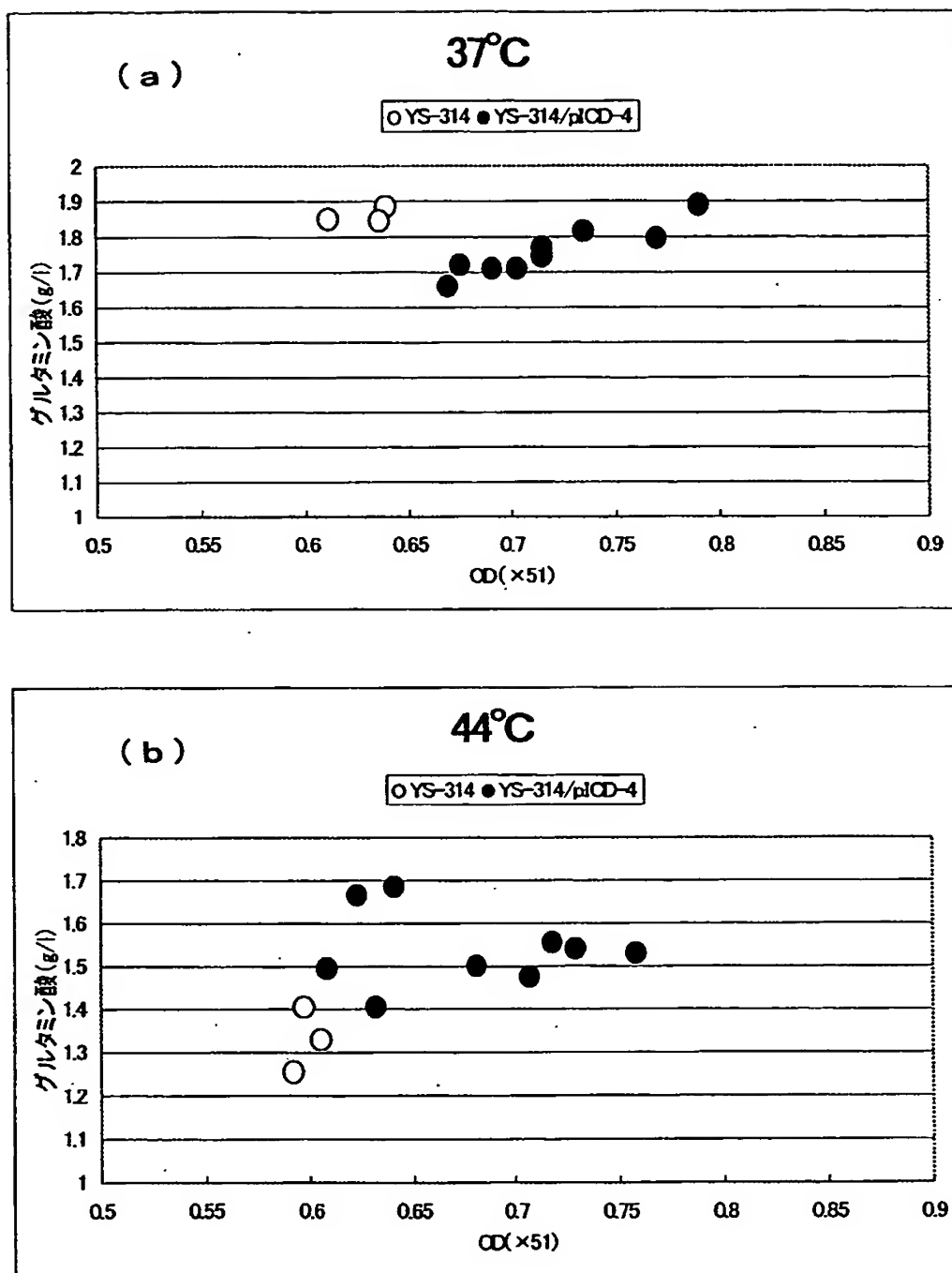


Fig. 20

THIS PAGE BLANK (USPTO)

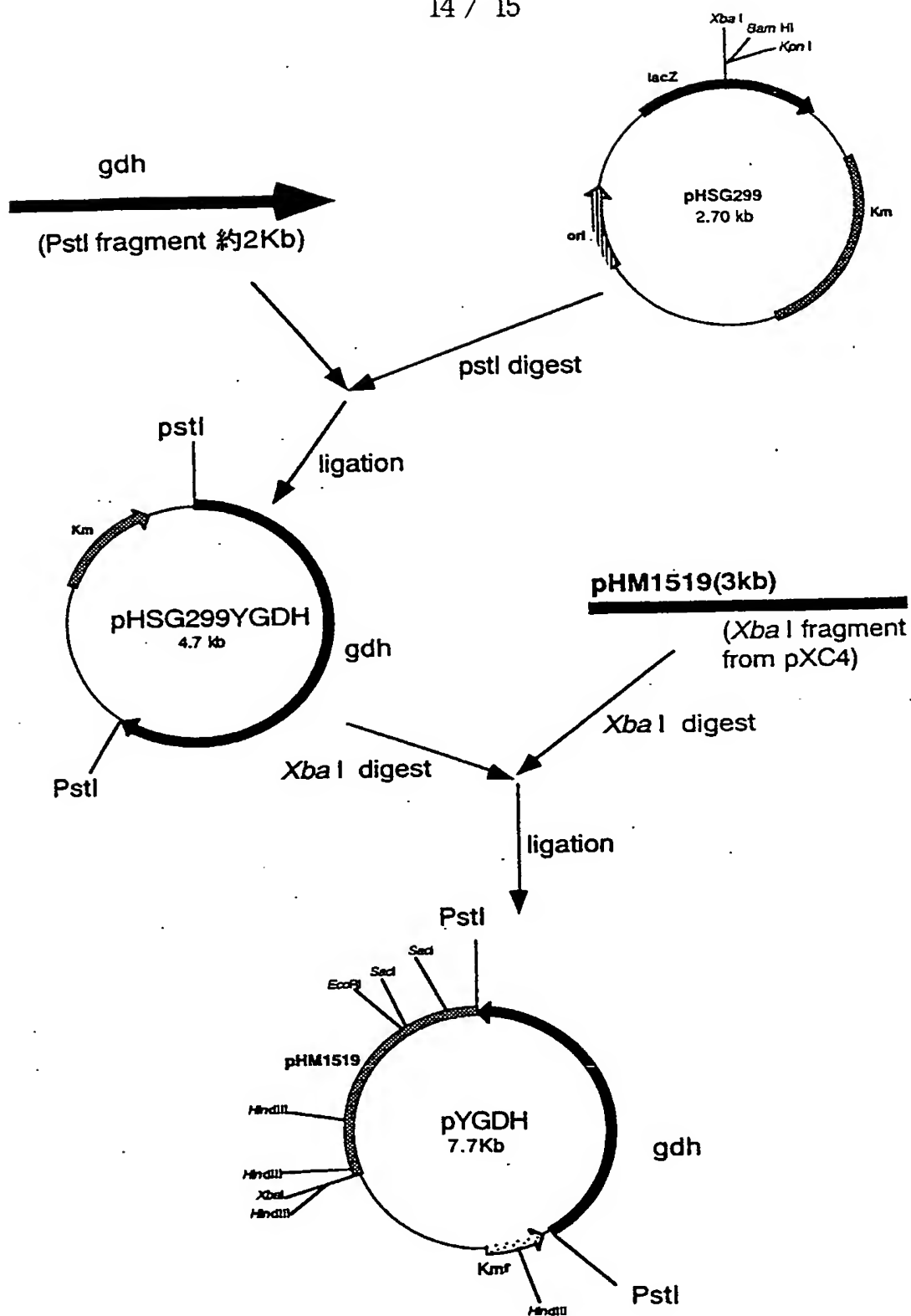


Fig. 21

THIS PAGE BLANK (USPTO)

15 / 15

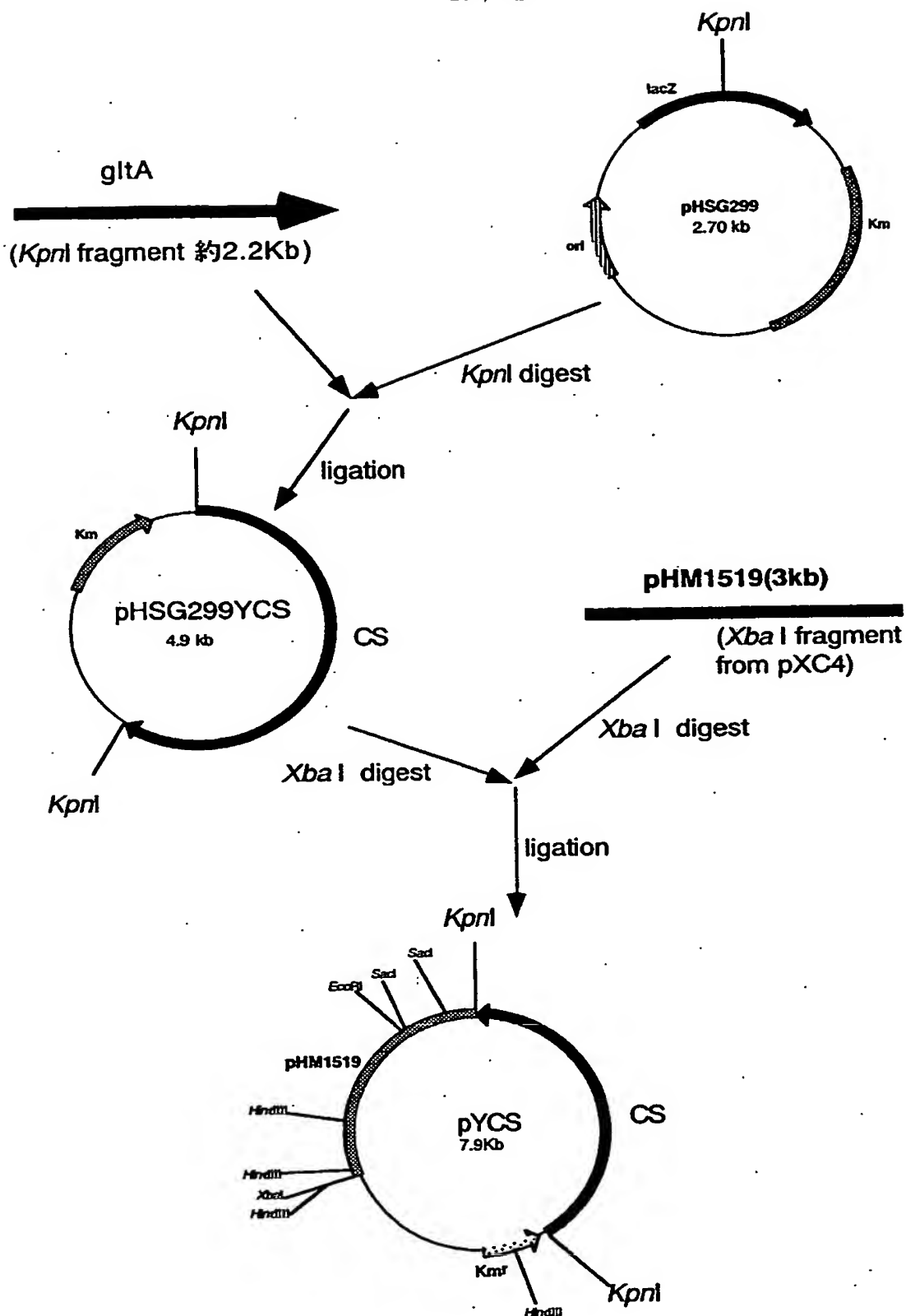


Fig. 22

THIS PAGE BLANK (USPTO)

配列表
SEQUENCE LISTING

<110> Ajinomoto Co., Inc.

<120> Genes for Heat resistant Enzymes of Amino Acid
Biosynthetic Pathway Derived from Thermophilic
Coryneform Bacteria

<130> B691SMOP1072

<140>

<141> 2000-10-04

<150> JP 11-282716

<151> 1999-10-04

<150> JP 11-311147

<151> 1999-11-01

<150> JP 2000-120687

<151> 2000-04-21

<160> 108

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 1980

<212> DNA

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>

<221> CDS

<222> (577)..(1869)

<400> 1

```
tgcattccac cgacgggtcac gcgttcgggtc ttgtcagcgg cgtcaatctg ctgatgggtc 60
atgcaaagct ctttcgaagc aagagatcgg gtgtgtgcgg gcacctatcg ggggaagccc 120
tcgctgcgcc ccaggggggag ctggcgatgt gaccagggtta agtgataacc atcaccttgc 180
caatggggttt gcgaacttta ccgtgacgct acccccgctt ttgtttgate acaccagctc 240
gaaggctgtc gcttttccga agatgcacgt gaagtggcaa atccttgcca cccgagggtt 300
tcccagtaca aacgtactag tgatgaggat cacggggaac attgtggaga ttgcactttg 360
```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

2/123

```

caatatttgc aaaaggggtg actacccccg cgcaaaactt aaaaacccaa atccgttgac 420
ggacccatgc ccgatgaagc aatgtgtgaa gcacgccacc ggaacacagg ttgtggatca 480
ctcaccatga tgtgggggat tcgcatcaca cagtgtgcag ggccggcacct ctaccgaatg 540
cgccttacag cagcaccaag aagaagtgac tcttag atg tca aac gtt gga acg 594
                               Met Ser Asn Val Gly Thr
                               1                               5
cca cgt acc gca cag gaa atc cag cag gat tgg gac acc aac cca cgc 642
Pro Arg Thr Ala Gln Glu Ile Gln Gln Asp Trp Asp Thr Asn Pro Arg
                               10                               15                               20
tgg aac gga atc acc cgc gac tac acc gct gag cag gta gct gag ctc 690
Trp Asn Gly Ile Thr Arg Asp Tyr Thr Ala Glu Gln Val Ala Glu Leu
                               25                               30                               35
cag ggc agc gtc gtc gag gag cac acc ctc gca aag cgc ggc gcc gag 738
Gln Gly Ser Val Val Glu Glu His Thr Leu Ala Lys Arg Gly Ala Glu
                               40                               45                               50
atc ctg tgg gat gca gtt tcc gca gag ggc gac gac tac atc aac gca 786
Ile Leu Trp Asp Ala Val Ser Ala Glu Gly Asp Asp Tyr Ile Asn Ala
                               55                               60                               65                               70
ctg ggc gcc ctt acc ggt aac cag gct gtc cag cag gtc cgt gcc ggc 834
Leu Gly Ala Leu Thr Gly Asn Gln Ala Val Gln Gln Val Arg Ala Gly
                               75                               80                               85
ctg aag gct gtc tac ctc tcc ggc tgg cag gtc gca ggt gac gcc aac 882
Leu Lys Ala Val Tyr Leu Ser Gly Trp Gln Val Ala Gly Asp Ala Asn
                               90                               95                               100
ctc gcc ggt cac acc tac ccc gac cag tcc ctg tac ccg gcg aac tcc 930
Leu Ala Gly His Thr Tyr Pro Asp Gln Ser Leu Tyr Pro Ala Asn Ser
                               105                               110                               115
gtc ccg aac gtt gtc cgt cgc atc aac aac gca ctg ctg cgc gcc gat 978
Val Pro Asn Val Val Arg Arg Ile Asn Asn Ala Leu Leu Arg Ala Asp
                               120                               125                               130
gag atc gca cgc gtc gag ggt gac acc tcc gtc gac aac tgg ctc gtc 1026
Glu Ile Ala Arg Val Glu Gly Asp Thr Ser Val Asp Asn Trp Leu Val
                               135                               140                               145                               150
ccg atc gtc gcc gac ggc gag gcc ggc ttc ggt ggc gcc ctc aac gtc 1074
Pro Ile Val Ala Asp Gly Glu Ala Gly Phe Gly Gly Ala Leu Asn Val
                               155                               160                               165
tac gag ctc cag aag ggc atg atc acc gct ggt gcc gca ggc acc cac 1122
Tyr Glu Leu Gln Lys Gly Met Ile Thr Ala Gly Ala Ala Gly Thr His
                               170                               175                               180
tgg gag gat cag ctc gct tcc gag aag aag tgt ggc cac ctc ggt ggc 1170
Trp Glu Asp Gln Leu Ala Ser Glu Lys Lys Cys Gly His Leu Gly Gly
                               185                               190                               195
aag gtc ctc atc ccg acc cag cag cac atc cgc acc ctg aac tcc gcc 1218

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

4/123

425

430

gccgtatggc ctgacggcac cgccccctccc ttgtcactcc agtactcctt tgtgcacatc 1949
 ggccatctcc acaccgcgcg ccccgccacc t 1980

<210> 2

<211> 431

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 2

Met	Ser	Asn	Val	Gly	Thr	Pro	Arg	Thr	Ala	Gln	Glu	Ile	Gln	Gln	Asp
1				5					10					15	
Trp	Asp	Thr	Asn	Pro	Arg	Trp	Asn	Gly	Ile	Thr	Arg	Asp	Tyr	Thr	Ala
			20					25					30		
Glu	Gln	Val	Ala	Glu	Leu	Gln	Gly	Ser	Val	Val	Glu	Glu	His	Thr	Leu
		35					40					45			
Ala	Lys	Arg	Gly	Ala	Glu	Ile	Leu	Trp	Asp	Ala	Val	Ser	Ala	Glu	Gly
	50					55					60				
Asp	Asp	Tyr	Ile	Asn	Ala	Leu	Gly	Ala	Leu	Thr	Gly	Asn	Gln	Ala	Val
65					70				75					80	
Gln	Gln	Val	Arg	Ala	Gly	Leu	Lys	Ala	Val	Tyr	Leu	Ser	Gly	Trp	Gln
			85						90					95	
Val	Ala	Gly	Asp	Ala	Asn	Leu	Ala	Gly	His	Thr	Tyr	Pro	Asp	Gln	Ser
		100						105					110		
Leu	Tyr	Pro	Ala	Asn	Ser	Val	Pro	Asn	Val	Val	Arg	Arg	Ile	Asn	Asn
		115						120					125		
Ala	Leu	Leu	Arg	Ala	Asp	Glu	Ile	Ala	Arg	Val	Glu	Gly	Asp	Thr	Ser
	130					135					140				
Val	Asp	Asn	Trp	Leu	Val	Pro	Ile	Val	Ala	Asp	Gly	Glu	Ala	Gly	Phe
145					150					155					160
Gly	Gly	Ala	Leu	Asn	Val	Tyr	Glu	Leu	Gln	Lys	Gly	Met	Ile	Thr	Ala
			165						170					175	
Gly	Ala	Ala	Gly	Thr	His	Trp	Glu	Asp	Gln	Leu	Ala	Ser	Glu	Lys	Lys
		180						185					190		
Cys	Gly	His	Leu	Gly	Gly	Lys	Val	Leu	Ile	Pro	Thr	Gln	Gln	His	Ile
	195					200						205			
Arg	Thr	Leu	Asn	Ser	Ala	Arg	Leu	Ala	Ala	Asp	Val	Ala	Asn	Thr	Pro
	210					215					220				
Thr	Val	Val	Ile	Ala	Arg	Thr	Asp	Ala	Glu	Ala	Ala	Thr	Leu	Ile	Thr
225					230					235					240
Ser	Asp	Val	Asp	Glu	Arg	Asp	Arg	Pro	Phe	Ile	Thr	Gly	Glu	Arg	Thr
			245						250					255	
Ala	Glu	Gly	Tyr	Tyr	His	Val	Lys	Pro	Gly	Leu	Glu	Pro	Cys	Ile	Ala

THIS PAGE BLANK (USPTO)

	260		265		270										
Arg	Ala	Lys	Ser	Tyr	Ala	Pro	Tyr	Ala	Asp	Met	Ile	Trp	Met	Glu	Thr
	275						280					285			
Gly	Thr	Pro	Asp	Leu	Glu	Leu	Ala	Lys	Lys	Phe	Ala	Glu	Gly	Val	Arg
	290					295					300				
Ser	Glu	Phe	Pro	Asp	Gln	Leu	Leu	Ser	Tyr	Asn	Cys	Ser	Pro	Ser	Phe
305					310					315					320
Asn	Trp	Ser	Ala	His	Leu	Glu	Ala	Asp	Glu	Ile	Ala	Lys	Phe	Gln	Lys
			325					330					335		
Glu	Leu	Gly	Ala	Met	Gly	Phe	Lys	Phe	Gln	Phe	Ile	Thr	Leu	Ala	Gly
	340						345						350		
Phe	His	Ser	Leu	Asn	Tyr	Gly	Met	Phe	Asp	Leu	Ala	Tyr	Gly	Tyr	Ala
	355					360						365			
Arg	Glu	Gly	Met	Pro	Ala	Phe	Val	Asp	Leu	Gln	Asn	Arg	Glu	Phe	Lys
	370					375					380				
Ala	Ala	Glu	Glu	Arg	Gly	Phe	Thr	Ala	Val	Lys	His	Gln	Arg	Glu	Val
385					390					395					400
Gly	Ala	Gly	Tyr	Phe	Asp	Thr	Ile	Ala	Thr	Thr	Val	Asp	Pro	Asn	Ser
			405					410						415	
Ser	Thr	Thr	Ala	Leu	Lys	Gly	Ser	Thr	Glu	Glu	Cys	Gln	Phe	His	
	420						425						430		

<210> 3

<211> 2381

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (577)..(2349)

<400> 3

```

agcaggccgt gttgccgaac ggcaacttcc gcagccgcaa ggagatcgag gaggtgtact 60
cgcacctcaa ccctgccgag gacaccgtgg tgtactgccg cgtgggtgac cgcgcggccc 120
acacctggtt cgtgttgaag tacctgctgg ggtttgaaaa cgtccgcaac tatgacggtt 180
cctgggtccga gtggggcaac atggtgcgca tgcccategt ccagggtgat gagccgggct 240
cactctagtc accccggggt cacctccctg gtcacccccg taccctcccg ggtacacccc 300
ggggacgggg tgtgacctgg atctcccctg catgtggaca ccgggaaact ttgcctggga 360
aatgaccatc cagtaccgta atgcgggtat gttaacgcgg tcacagggtg caccagaatc 420
cggatcgtct aaccccctta gcgggattcg ctaaaagatc accgagttag tgtgcaagaa 480
taatgctgat cgcaggggca ctgtcatagc ctgtcatgca gtcaatgaac agtgcggtgc 540
tctgtcgtga agaaaatcaa aaccaggagg gtttta gtg tca gtc gag acc agg 594
Val Ser Val Glu Thr Arg

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

										1											5	
aag	atc	acc	aag	gta	ctt	gtc	gcc	aac	cgt	ggt	gaa	atc	gca	atc	cgt	642						
Lys	Ile	Thr	Lys	Val	Leu	Val	Ala	Asn	Arg	Gly	Glu	Ile	Ala	Ile	Arg							
			10						15						20							
gtt	ttc	cgc	gca	gca	cgg	gat	gaa	ggc	atc	gcc	tct	gtc	gcc	gtc	tac	690						
Val	Phe	Arg	Ala	Ala	Arg	Asp	Glu	Gly	Ile	Ala	Ser	Val	Ala	Val	Tyr							
			25						30						35							
gcg	gag	ccg	gac	gca	gat	gcc	cct	ttc	gtc	gag	tat	gcc	gat	gag	gcc	738						
Ala	Glu	Pro	Asp	Ala	Asp	Ala	Pro	Phe	Val	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Ala							
			40						45						50							
ttc	gca	ctc	ggt	ggc	cag	act	tcc	gca	gag	tcc	tac	ctc	gtc	att	gac	786						
Phe	Ala	Leu	Gly	Gly	Gln	Thr	Ser	Ala	Glu	Ser	Tyr	Leu	Val	Ile	Asp							
			55						60						65							
aag	atc	att	gac	gca	gca	cgc	aag	tcc	ggt	gca	gac	gct	gtc	cac	ccc	834						
Lys	Ile	Ile	Asp	Ala	Ala	Arg	Lys	Ser	Gly	Ala	Asp	Ala	Val	His	Pro							
			75						80						85							
ggc	tac	ggc	ttc	ctc	gcc	gag	aac	gcc	gat	ttc	gct	gaa	gct	gtc	atc	882						
Gly	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ala	Glu	Asn	Ala	Asp	Phe	Ala	Glu	Ala	Val	Ile							
			90						95						100							
aac	gag	ggc	ctg	atc	tgg	atc	gga	cca	tcc	cct	gag	tcc	atc	cgt	tcc	930						
Asn	Glu	Gly	Leu	Ile	Trp	Ile	Gly	Pro	Ser	Pro	Glu	Ser	Ile	Arg	Ser							
			105						110						115							
ctc	ggt	gac	aag	gtc	acc	gca	cgc	cac	atc	gcc	aac	aac	gcc	aac	gca	978						
Leu	Gly	Asp	Lys	Val	Thr	Ala	Arg	His	Ile	Ala	Asn	Asn	Ala	Asn	Ala							
			120						125						130							
ccg	atg	gca	ccg	ggc	acc	aag	gag	cct	gtc	aag	gac	gcc	gct	gag	gtt	1026						
Pro	Met	Ala	Pro	Gly	Thr	Lys	Glu	Pro	Val	Lys	Asp	Ala	Ala	Glu	Val							
135						140						145			150							
gtc	gcc	ttc	gcc	gag	gag	ttc	ggt	ctc	ccc	atc	gcc	atc	aag	gct	gcc	1074						
Val	Ala	Phe	Ala	Glu	Glu	Phe	Gly	Leu	Pro	Ile	Ala	Ile	Lys	Ala	Ala							
			155						160						165							
ttc	ggt	ggc	ggc	gga	cgt	ggc	atg	aag	gtc	gcc	tac	gag	atg	gac	gag	1122						
Phe	Gly	Gly	Gly	Gly	Arg	Gly	Met	Lys	Val	Ala	Tyr	Glu	Met	Asp	Glu							
			170						175						180							
gtc	gcc	gac	ctc	ttc	gaa	tcc	gcc	acc	cgt	gag	gcc	acc	gcc	gcc	ttc	1170						
Val	Ala	Asp	Leu	Phe	Glu	Ser	Ala	Thr	Arg	Glu	Ala	Thr	Ala	Ala	Phe							
			185						190						195							
ggt	cgt	ggt	gag	tgc	ttc	gtg	gag	cgc	tac	ctg	gac	aag	gcc	cgc	cac	1218						
Gly	Arg	Gly	Glu	Cys	Phe	Val	Glu	Arg	Tyr	Leu	Asp	Lys	Ala	Arg	His							
			200						205						210							
gtc	gag	gca	cag	gtc	atc	gcc	gac	aag	cac	ggc	aac	gtt	gtg	gtc	gcc	1266						
Val	Glu	Ala	Gln	Val	Ile	Ala	Asp	Lys	His	Gly	Asn	Val	Val	Val	Ala							
215						220						225			230							

THIS PAGE BLANK (USPTO)

7/123

ggt acc cgt gac tgc tcc ctg cag cgt cgt ttc cag aag ctc gtc gag	1314
Gly Thr Arg Asp Cys Ser Leu Gln Arg Arg Phe Gln Lys Leu Val Glu	
235 240 245	
gag gca ccg gca ccg ttc ctc acc gat gag cag cgt gac cgc atc cac	1362
Glu Ala Pro Ala Pro Phe Leu Thr Asp Glu Gln Arg Asp Arg Ile His	
250 255 260	
tcc tcc gcc aag gct atc tgc cgc gag gcc ggt tac tac ggt gcc ggc	1410
Ser Ser Ala Lys Ala Ile Cys Arg Glu Ala Gly Tyr Tyr Gly Ala Gly	
265 270 275	
acc gtg gag tac ctg gtc ggt tcc gac gga ctg atc tcc ttc ctg gag	1458
Thr Val Glu Tyr Leu Val Gly Ser Asp Gly Leu Ile Ser Phe Leu Glu	
280 285 290	
gtc aac acc cgc ctg cag gtg gag cac ccc gtc acc gag gag acc acc	1506
Val Asn Thr Arg Leu Gln Val Glu His Pro Val Thr Glu Glu Thr Thr	
295 300 305 310	
ggc atc gac ctg gtg cgc gag atg ttc cgc atc gcc gag ggc gcc gag	1554
Gly Ile Asp Leu Val Arg Glu Met Phe Arg Ile Ala Glu Gly Ala Glu	
315 320 325	
ctc tcc atc aag gag gac ccg acc cca cgc ggc cac gcc ttc gag ttc	1602
Leu Ser Ile Lys Glu Asp Pro Thr Pro Arg Gly His Ala Phe Glu Phe	
330 335 340	
cgc atc aac ggc gag gac gca ggc tcc aac ttc atg ccc gca ccg ggc	1650
Arg Ile Asn Gly Glu Asp Ala Gly Ser Asn Phe Met Pro Ala Pro Gly	
345 350 355	
aag atc acc cgc tac cgt gag ccc gcc ggc ccg ggt gtc cgc atg gac	1698
Lys Ile Thr Arg Tyr Arg Glu Pro Ala Gly Pro Gly Val Arg Met Asp	
360 365 370	
tcc ggc gtt gtc gag ggt tcc gag atc tcc ggc cag ttc gac tcc atg	1746
Ser Gly Val Val Glu Gly Ser Glu Ile Ser Gly Gln Phe Asp Ser Met	
375 380 385 390	
ctg gcc aag ctg atc gtc tgg ggc cag acc cgt gag cag gcc ctg gag	1794
Leu Ala Lys Leu Ile Val Trp Gly Gln Thr Arg Glu Gln Ala Leu Glu	
395 400 405	
cgt tcc cgt cgt gcg ctc ggc gag tac atc gtc gag ggc atg ccg acc	1842
Arg Ser Arg Arg Ala Leu Gly Glu Tyr Ile Val Glu Gly Met Pro Thr	
410 415 420	
gtc atc ccg ttc cac tcc cac atc gtc tcc aac ccg gca ttc gtc ggt	1890
Val Ile Pro Phe His Ser His Ile Val Ser Asn Pro Ala Phe Val Gly	
425 430 435	
gac ggc gag ggc ttc gag gtc tac acc aag tgg atc gag gag gtc tgg	1938
Asp Gly Glu Gly Phe Glu Val Tyr Thr Lys Trp Ile Glu Glu Val Trp	
440 445 450	
gac aac ccg atc gag ccg ttc gtc gat gca gcc gac ctc gac gac gag	1986

THIS PAGE BLANK (USPTO)

8/123

Asp	Asn	Pro	Ile	Glu	Pro	Phe	Val	Asp	Ala	Ala	Asp	Leu	Asp	Asp	Glu		
455					460					465					470		
gag	aag	acc	ccg	tcg	cag	aag	gtc	atc	gtc	gag	atc	gac	ggc	cgc	cgc	2034	
Glu	Lys	Thr	Pro	Ser	Gln	Lys	Val	Ile	Val	Glu	Ile	Asp	Gly	Arg	Arg		
				475					480					485			
gtc	gag	gtg	gct	ctc	ccg	ggc	gac	ctc	gct	ctc	ggc	ggt	ggc	gca	ggt	2082	
Val	Glu	Val	Ala	Leu	Pro	Gly	Asp	Leu	Ala	Leu	Gly	Gly	Gly	Ala	Gly		
			490					495					500				
gcc	gcc	aag	aag	aag	ccg	aag	aag	cgt	cgc	gca	ggt	ggc	gcc	aag	gcc	2130	
Ala	Ala	Lys	Lys	Lys	Pro	Lys	Lys	Arg	Arg	Ala	Gly	Gly	Ala	Lys	Ala		
		505					510					515					
ggt	gtc	tcc	ggt	gac	tcc	gtc	gca	gcc	ccg	atg	cag	ggc	acc	gtc	atc	2178	
Gly	Val	Ser	Gly	Asp	Ser	Val	Ala	Ala	Pro	Met	Gln	Gly	Thr	Val	Ile		
	520					525					530						
aag	gtc	aac	gtt	gag	gac	ggc	gcc	gag	gtc	tcc	gag	ggt	gac	acc	gtc	2226	
Lys	Val	Asn	Val	Glu	Asp	Gly	Ala	Glu	Val	Ser	Glu	Gly	Asp	Thr	Val		
535					540					545					550		
gtg	gtt	ctc	gag	gcc	atg	aag	atg	gag	aac	ccg	gtc	aag	gcc	cac	aag	2274	
Val	Val	Leu	Glu	Ala	Met	Lys	Met	Glu	Asn	Pro	Val	Lys	Ala	His	Lys		
				555					560					565			
tcc	ggt	acc	gtc	tcc	ggt	ctg	acc	atc	gcc	gcg	ggt	gag	ggc	gtg	acc	2322	
Ser	Gly	Thr	Val	Ser	Gly	Leu	Thr	Ile	Ala	Ala	Gly	Glu	Gly	Val	Thr		
			570					575					580				
aag	ggt	cag	gtt	ctc	ctg	gag	atc	aag	taatcccttc	agggaacaga						2369	
Lys	Gly	Gln	Val	Leu	Leu	Glu	Ile	Lys									
		585					590										
cagccctgtt	ct																2381

<210> 4

<211> 591

<212> PRT

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<400> 4

Val	Ser	Val	Glu	Thr	Arg	Lys	Ile	Thr	Lys	Val	Leu	Val	Ala	Asn	Arg		
1				5					10					15			
Gly	Glu	Ile	Ala	Ile	Arg	Val	Phe	Arg	Ala	Ala	Arg	Asp	Glu	Gly	Ile		
			20					25					30				
Ala	Ser	Val	Ala	Val	Tyr	Ala	Glu	Pro	Asp	Ala	Asp	Ala	Pro	Phe	Val		
		35					40					45					
Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Ala	Phe	Ala	Leu	Gly	Gly	Gln	Thr	Ser	Ala	Glu		
	50					55					60						
Ser	Tyr	Leu	Val	Ile	Asp	Lys	Ile	Ile	Asp	Ala	Ala	Arg	Lys	Ser	Gly		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

9/123

65					70					75					80
Ala	Asp	Ala	Val	His	Pro	Gly	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ala	Glu	Asn	Ala	Asp
				85					90					95	
Phe	Ala	Glu	Ala	Val	Ile	Asn	Glu	Gly	Leu	Ile	Trp	Ile	Gly	Pro	Ser
			100					105					110		
Pro	Glu	Ser	Ile	Arg	Ser	Leu	Gly	Asp	Lys	Val	Thr	Ala	Arg	His	Ile
		115					120					125			
Ala	Asn	Asn	Ala	Asn	Ala	Pro	Met	Ala	Pro	Gly	Thr	Lys	Glu	Pro	Val
	130					135				140					
Lys	Asp	Ala	Ala	Glu	Val	Val	Ala	Phe	Ala	Glu	Glu	Phe	Gly	Leu	Pro
145				150						155				160	
Ile	Ala	Ile	Lys	Ala	Ala	Phe	Gly	Gly	Gly	Gly	Arg	Gly	Met	Lys	Val
			165				170						175		
Ala	Tyr	Glu	Met	Asp	Glu	Val	Ala	Asp	Leu	Phe	Glu	Ser	Ala	Thr	Arg
		180					185						190		
Glu	Ala	Thr	Ala	Ala	Phe	Gly	Arg	Gly	Glu	Cys	Phe	Val	Glu	Arg	Tyr
	195					200						205			
Leu	Asp	Lys	Ala	Arg	His	Val	Glu	Ala	Gln	Val	Ile	Ala	Asp	Lys	His
	210					215					220				
Gly	Asn	Val	Val	Val	Ala	Gly	Thr	Arg	Asp	Cys	Ser	Leu	Gln	Arg	Arg
225				230					235					240	
Phe	Gln	Lys	Leu	Val	Glu	Glu	Ala	Pro	Ala	Pro	Phe	Leu	Thr	Asp	Glu
			245					250						255	
Gln	Arg	Asp	Arg	Ile	His	Ser	Ser	Ala	Lys	Ala	Ile	Cys	Arg	Glu	Ala
		260					265						270		
Gly	Tyr	Tyr	Gly	Ala	Gly	Thr	Val	Glu	Tyr	Leu	Val	Gly	Ser	Asp	Gly
	275					280						285			
Leu	Ile	Ser	Phe	Leu	Glu	Val	Asn	Thr	Arg	Leu	Gln	Val	Glu	His	Pro
	290					295				300					
Val	Thr	Glu	Glu	Thr	Thr	Gly	Ile	Asp	Leu	Val	Arg	Glu	Met	Phe	Arg
305				310					315					320	
Ile	Ala	Glu	Gly	Ala	Glu	Leu	Ser	Ile	Lys	Glu	Asp	Pro	Thr	Pro	Arg
			325					330					335		
Gly	His	Ala	Phe	Glu	Phe	Arg	Ile	Asn	Gly	Glu	Asp	Ala	Gly	Ser	Asn
		340					345						350		
Phe	Met	Pro	Ala	Pro	Gly	Lys	Ile	Thr	Arg	Tyr	Arg	Glu	Pro	Ala	Gly
	355					360						365			
Pro	Gly	Val	Arg	Met	Asp	Ser	Gly	Val	Val	Glu	Gly	Ser	Glu	Ile	Ser
	370					375					380				
Gly	Gln	Phe	Asp	Ser	Met	Leu	Ala	Lys	Leu	Ile	Val	Trp	Gly	Gln	Thr
385				390					395					400	
Arg	Glu	Gln	Ala	Leu	Glu	Arg	Ser	Arg	Arg	Ala	Leu	Gly	Glu	Tyr	Ile
			405					410						415	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

10/123

Val	Glu	Gly	Met	Pro	Thr	Val	Ile	Pro	Phe	His	Ser	His	Ile	Val	Ser
			420					425					430		
Asn	Pro	Ala	Phe	Val	Gly	Asp	Gly	Glu	Gly	Phe	Glu	Val	Tyr	Thr	Lys
		435					440					445			
Trp	Ile	Glu	Glu	Val	Trp	Asp	Asn	Pro	Ile	Glu	Pro	Phe	Val	Asp	Ala
	450					455					460				
Ala	Asp	Leu	Asp	Asp	Glu	Glu	Lys	Thr	Pro	Ser	Gln	Lys	Val	Ile	Val
465					470					475					480
Glu	Ile	Asp	Gly	Arg	Arg	Val	Glu	Val	Ala	Leu	Pro	Gly	Asp	Leu	Ala
			485						490					495	
Leu	Gly	Gly	Gly	Ala	Gly	Ala	Ala	Lys	Lys	Lys	Pro	Lys	Lys	Arg	Arg
		500					505						510		
Ala	Gly	Gly	Ala	Lys	Ala	Gly	Val	Ser	Gly	Asp	Ser	Val	Ala	Ala	Pro
	515						520					525			
Met	Gln	Gly	Thr	Val	Ile	Lys	Val	Asn	Val	Glu	Asp	Gly	Ala	Glu	Val
	530					535					540				
Ser	Glu	Gly	Asp	Thr	Val	Val	Val	Leu	Glu	Ala	Met	Lys	Met	Glu	Asn
545					550					555					560
Pro	Val	Lys	Ala	His	Lys	Ser	Gly	Thr	Val	Ser	Gly	Leu	Thr	Ile	Ala
			565						570					575	
Ala	Gly	Glu	Gly	Val	Thr	Lys	Gly	Gln	Val	Leu	Leu	Glu	Ile	Lys	
		580						585						590	

<210> 5

<211> 2128

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (339)..(1967)

<400> 5

gctgtcattc cgaccacatt cgccccggga tccgggctcc accacctccc ggacccatgc 60
 ccataacctg cggaaccac gggaaacacg ggaaaaaccg atctcattca gaccggcggg 120
 atccacctgt ggaacagtca gcggcgcggc catggagggc agcgacaggt gacgtccgag 180
 caccgggttc cccaccgtgg acacggcatt gatccgacac ggtggggata gtttcatgct 240
 gaaaaactat cgctgtgcag ggaggatccg gaatgtgacc tatttcatgg agaaatgatt 300
 gtggacgata cccccgggta cggtaccat tccaaaac atg acc att tcc tca cct 356

Met Thr Ile Ser Ser Pro

1

5

ttg att gac gtc gct aac ctg cca gac atc aac acc acc gcc ggc aag 404
 Leu Ile Asp Val Ala Asn Leu Pro Asp Ile Asn Thr Thr Ala Gly Lys

THIS PAGE BLANK (USPTO)

10				15				20								
atc	gcc	gac	ctg	aag	gcc	cgc	cgg	gcg	gaa	gcc	cac	ttc	ccc	atg	ggg	452
Ile	Ala	Asp	Leu	Lys	Ala	Arg	Arg	Ala	Glu	Ala	His	Phe	Pro	Met	Gly	
25				30				35								
gaa	aag	gcc	gta	gag	aag	gtc	cac	gcg	gcc	aac	cgc	ctc	acc	gcg	cgc	500
Glu	Lys	Ala	Val	Glu	Lys	Val	His	Ala	Ala	Asn	Arg	Leu	Thr	Ala	Arg	
40				45				50								
gaa	cga	ctt	gac	tac	ctg	ctc	gat	gaa	ggc	tcc	ttc	atc	gaa	acc	gat	548
Glu	Arg	Leu	Asp	Tyr	Leu	Leu	Asp	Glu	Gly	Ser	Phe	Ile	Glu	Thr	Asp	
55				60				65				70				
cag	ctc	gca	cgc	cac	cgc	acc	acc	gcg	ttc	ggc	ctg	ggc	aac	aag	cga	596
Gln	Leu	Ala	Arg	His	Arg	Thr	Thr	Ala	Phe	Gly	Leu	Gly	Asn	Lys	Arg	
75				80				85								
ccg	gcc	acc	gac	ggc	atc	gtc	acc	ggc	tgg	ggc	acc	atc	gac	ggc	cgc	644
Pro	Ala	Thr	Asp	Gly	Ile	Val	Thr	Gly	Trp	Gly	Thr	Ile	Asp	Gly	Arg	
90				95				100								
gag	gtc	tgc	atc	ttc	tcc	cag	gac	ggc	acc	gtc	ttc	ggg	ggc	gca	ctc	692
Glu	Val	Cys	Ile	Phe	Ser	Gln	Asp	Gly	Thr	Val	Phe	Gly	Gly	Ala	Leu	
105				110				115								
ggg	gag	gtc	tac	ggc	gag	aag	atg	atc	aag	atc	atg	gag	ctg	gcc	atc	740
Gly	Glu	Val	Tyr	Gly	Glu	Lys	Met	Ile	Lys	Ile	Met	Glu	Leu	Ala	Ile	
120				125				130								
gac	acc	ggc	cgc	cca	ctc	atc	ggc	ctg	tac	gag	ggg	gca	ggg	gcc	cgc	788
Asp	Thr	Gly	Arg	Pro	Leu	Ile	Gly	Leu	Tyr	Glu	Gly	Ala	Gly	Ala	Arg	
135				140				145				150				
atc	cag	gac	ggg	gcg	gtc	tcc	ctc	gac	ttc	atc	tcc	cag	acc	ttc	tat	836
Ile	Gln	Asp	Gly	Ala	Val	Ser	Leu	Asp	Phe	Ile	Ser	Gln	Thr	Phe	Tyr	
155				160				165								
cag	aac	atc	cag	gcc	tcc	ggc	gtg	atc	ccg	cag	atc	tcc	gtg	atc	atg	884
Gln	Asn	Ile	Gln	Ala	Ser	Gly	Val	Ile	Pro	Gln	Ile	Ser	Val	Ile	Met	
170				175				180								
ggg	gcc	tgc	gcc	ggg	ggc	aac	gcc	tac	ggc	ccg	gcc	ctg	acc	gac	ttc	932
Gly	Ala	Cys	Ala	Gly	Gly	Asn	Ala	Tyr	Gly	Pro	Ala	Leu	Thr	Asp	Phe	
185				190				195								
gtg	gtc	atg	gtg	gac	aag	acc	tcg	aag	atg	ttc	gtc	acc	ggc	ccc	gat	980
Val	Val	Met	Val	Asp	Lys	Thr	Ser	Lys	Met	Phe	Val	Thr	Gly	Pro	Asp	
200				205				210								
gtg	atc	aag	acc	gtc	acc	ggc	gag	gag	atc	acc	cag	gag	gag	ctc	ggc	1028
Val	Ile	Lys	Thr	Val	Thr	Gly	Glu	Glu	Ile	Thr	Gln	Glu	Glu	Leu	Gly	
215				220				225				230				
gga	gca	acc	acc	cac	atg	gtc	acc	gcc	ggc	aac	tcc	cac	tac	acc	gtc	1076
Gly	Ala	Thr	Thr	His	Met	Val	Thr	Ala	Gly	Asn	Ser	His	Tyr	Thr	Val	
235				240				245								

THIS PAGE BLANK (USPTO)

12/123

gcc acc gat gag gag gcc ctc gac tgg gtc cag gac ctc atc tcc ttc	1124
Ala Thr Asp Glu Glu Ala Leu Asp Trp Val Gln Asp Leu Ile Ser Phe	
250 255 260	
ctg ccc tcc aac aat cgc tcc tac gcc ccg gtg gag gag ttc gac gag	1172
Leu Pro Ser Asn Asn Arg Ser Tyr Ala Pro Val Glu Glu Phe Asp Glu	
265 270 275	
gag gac ggt ggc atc gcc gag aac atc acc gcc gat gac ctg aag ctg	1220
Glu Asp Gly Gly Ile Ala Glu Asn Ile Thr Ala Asp Asp Leu Lys Leu	
280 285 290	
gat gag atc atc ccg gat tcc gcc acc gtg ccc tat gat gtc cgc gac	1268
Asp Glu Ile Ile Pro Asp Ser Ala Thr Val Pro Tyr Asp Val Arg Asp	
295 300 305 310	
gtc atc cag tgc ctg acc gac gac ggt gag tac ctg gag atc cag gcc	1316
Val Ile Gln Cys Leu Thr Asp Asp Gly Glu Tyr Leu Glu Ile Gln Ala	
315 320 325	
gac cga gcc gag aat gtc gtc atc gcc ttc ggc cgc atc gag ggc cag	1364
Asp Arg Ala Glu Asn Val Val Ile Ala Phe Gly Arg Ile Glu Gly Gln	
330 335 340	
tcc gtc ggt ttc gtc gcc aac cag ccg acc cag ttc gcc ggc tgc ctg	1412
Ser Val Gly Phe Val Ala Asn Gln Pro Thr Gln Phe Ala Gly Cys Leu	
345 350 355	
gac atc gac tcc tcc gag aag gca gcc cgc ttc gtc cgc acc tgc gat	1460
Asp Ile Asp Ser Ser Glu Lys Ala Ala Arg Phe Val Arg Thr Cys Asp	
360 365 370	
gcc ttc aac atc ccg atc gtc atg ctt gtc gac gtc ccc ggc ttc ctc	1508
Ala Phe Asn Ile Pro Ile Val Met Leu Val Asp Val Pro Gly Phe Leu	
375 380 385 390	
ccc ggt gcc ggc cag gag tac ggc ggc atc ctg cgt cgt ggc gcc aaa	1556
Pro Gly Ala Gly Gln Glu Tyr Gly Gly Ile Leu Arg Arg Gly Ala Lys	
395 400 405	
ctg ctc tac gcc tac ggt gag gcc acc gtc ccg aag atc acc gtg acc	1604
Leu Leu Tyr Ala Tyr Gly Glu Ala Thr Val Pro Lys Ile Thr Val Thr	
410 415 420	
atg cgc aag gcc tac ggc ggt gcg tac tgt gtc atg gga tcc aag ggt	1652
Met Arg Lys Ala Tyr Gly Gly Ala Tyr Cys Val Met Gly Ser Lys Gly	
425 430 435	
ctg ggc gca gac atc aac ctg gcc tgg ccg acc gcg cag atc gcc gtc	1700
Leu Gly Ala Asp Ile Asn Leu Ala Trp Pro Thr Ala Gln Ile Ala Val	
440 445 450	
atg ggt gcc gcc ggc gcg gtc cag ttc atc tac cgc aag gag ctc atg	1748
Met Gly Ala Ala Gly Ala Val Gln Phe Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Met	
455 460 465 470	
gcc gct gat gcc aag ggc ctg gac acc gtc gcc ctg gcc cag tcc ttc	1796

THIS PAGE BLANK (USPTO)

13/123

Ala Ala Asp Ala Lys Gly Leu Asp Thr Val Ala Leu Ala Gln Ser Phe
 475 480 485
 gag cgt gag tac gag gac cac atg ctc aac ccg tac ctg gcg gcc gag 1844
 Glu Arg Glu Tyr Glu Asp His Met Leu Asn Pro Tyr Leu Ala Ala Glu
 490 495 500
 cgt ggc ctc atc gac gcg gtg atc ctg ccg tcc gag acc cgt ggc cag 1892
 Arg Gly Leu Ile Asp Ala Val Ile Leu Pro Ser Glu Thr Arg Gly Gln
 505 510 515
 atc gca cgc aac ctg cgt ctg ctc aag cac aag aat gtc tcc cgc cct 1940
 Ile Ala Arg Asn Leu Arg Leu Leu Lys His Lys Asn Val Ser Arg Pro
 520 525 530
 gcc cgc aag cac ggc aac atg cca ctg taagcaccgc ggaccacccc 1987
 Ala Arg Lys His Gly Asn Met Pro Leu
 535 540
 ctacgcccgc acccagggc ctttgcctggc aggtgcgggc gctgtgcgtt ttccgcgcct 2047
 gccgacgcc ggccccctgc cctgtgatgc gatctgcgga tgtgatctgc gcccgcgcca 2107
 actccccctg ttgaaccctg c 2128

<210> 6

<211> 543

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 6

Met Thr Ile Ser Ser Pro Leu Ile Asp Val Ala Asn Leu Pro Asp Ile
 1 5 10 15
 Asn Thr Thr Ala Gly Lys Ile Ala Asp Leu Lys Ala Arg Arg Ala Glu
 20 25 30
 Ala His Phe Pro Met Gly Glu Lys Ala Val Glu Lys Val His Ala Ala
 35 40 45
 Asn Arg Leu Thr Ala Arg Glu Arg Leu Asp Tyr Leu Leu Asp Glu Gly
 50 55 60
 Ser Phe Ile Glu Thr Asp Gln Leu Ala Arg His Arg Thr Thr Ala Phe
 65 70 75 80
 Gly Leu Gly Asn Lys Arg Pro Ala Thr Asp Gly Ile Val Thr Gly Trp
 85 90 95
 Gly Thr Ile Asp Gly Arg Glu Val Cys Ile Phe Ser Gln Asp Gly Thr
 100 105 110
 Val Phe Gly Gly Ala Leu Gly Glu Val Tyr Gly Glu Lys Met Ile Lys
 115 120 125
 Ile Met Glu Leu Ala Ile Asp Thr Gly Arg Pro Leu Ile Gly Leu Tyr
 130 135 140
 Glu Gly Ala Gly Ala Arg Ile Gln Asp Gly Ala Val Ser Leu Asp Phe

THIS PAGE BLANK (USPTO)

14/123

145		150		155		160
Ile Ser Gln Thr	Phe Tyr Gln Asn Ile Gln Ala Ser Gly Val	Ile Pro				
	165	170	175			
Gln Ile Ser Val	Ile Met Gly Ala Cys Ala Gly Gly Asn Ala Tyr Gly					
	180	185	190			
Pro Ala Leu Thr	Asp Phe Val Val Met Val Asp Lys Thr Ser Lys Met					
	195	200	205			
Phe Val Thr Gly	Pro Asp Val Ile Lys Thr Val Thr Gly Glu Glu Ile					
	210	215	220			
Thr Gln Glu Glu	Leu Gly Gly Ala Thr Thr His Met Val Thr Ala Gly					
225	230	235	240			
Asn Ser His Tyr	Thr Val Ala Thr Asp Glu Glu Ala Leu Asp Trp Val					
	245	250	255			
Gln Asp Leu Ile	Ser Phe Leu Pro Ser Asn Asn Arg Ser Tyr Ala Pro					
	260	265	270			
Val Glu Glu Phe	Asp Glu Glu Asp Gly Gly Ile Ala Glu Asn Ile Thr					
	275	280	285			
Ala Asp Asp Leu	Lys Leu Asp Glu Ile Ile Pro Asp Ser Ala Thr Val					
	290	295	300			
Pro Tyr Asp Val	Arg Asp Val Ile Gln Cys Leu Thr Asp Asp Gly Glu					
305	310	315	320			
Tyr Leu Glu Ile	Gln Ala Asp Arg Ala Glu Asn Val Val Ile Ala Phe					
	325	330	335			
Gly Arg Ile Glu	Gly Gln Ser Val Gly Phe Val Ala Asn Gln Pro Thr					
	340	345	350			
Gln Phe Ala Gly	Cys Leu Asp Ile Asp Ser Ser Glu Lys Ala Ala Arg					
	355	360	365			
Phe Val Arg Thr	Cys Asp Ala Phe Asn Ile Pro Ile Val Met Leu Val					
	370	375	380			
Asp Val Pro Gly	Phe Leu Pro Gly Ala Gly Gln Glu Tyr Gly Gly Ile					
385	390	395	400			
Leu Arg Arg Gly	Ala Lys Leu Leu Tyr Ala Tyr Gly Glu Ala Thr Val					
	405	410	415			
Pro Lys Ile Thr	Val Thr Met Arg Lys Ala Tyr Gly Gly Ala Tyr Cys					
	420	425	430			
Val Met Gly Ser	Lys Gly Leu Gly Ala Asp Ile Asn Leu Ala Trp Pro					
	435	440	445			
Thr Ala Gln Ile	Ala Val Met Gly Ala Ala Gly Ala Val Gln Phe Ile					
	450	455	460			
Tyr Arg Lys Glu	Leu Met Ala Ala Asp Ala Lys Gly Leu Asp Thr Val					
465	470	475	480			
Ala Leu Ala Gln	Ser Phe Glu Arg Glu Tyr Glu Asp His Met Leu Asn					
	485	490	495			

THIS PAGE BLANK (USPTO)

15/123

Pro	Tyr	Leu	Ala	Ala	Glu	Arg	Gly	Leu	Ile	Asp	Ala	Val	Ile	Leu	Pro
			500					505					510		
Ser	Glu	Thr	Arg	Gly	Gln	Ile	Ala	Arg	Asn	Leu	Arg	Leu	Leu	Lys	His
			515				520					525			
Lys	Asn	Val	Ser	Arg	Pro	Ala	Arg	Lys	His	Gly	Asn	Met	Pro	Leu	
			530				535					540			

<210> 7

<211> 2076

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

 $\langle 222 \rangle \quad (412) \dots (2022)$

<400> 7

acgcccggcc	ccctgccctg	tgatgcgac	tgcggatgtg	atctgcgcc	gcgccaactc	60
ccctggttga	accctgccac	ataccctgag	tgcacactgg	gtggggteac	tttccacctc	120
acggggggga	ggaggtcaca	taggccatac	gctgcacttt	tgatgaagtg	tgggcagatc	180
gaccgggcaa	atctgggaaa	taaggggcct	ggtgaactag	cattccccct	agcgaagggt	240
gagcctcgcg	gaccccgcg	tgcccccaac	ggtcgtaa	atcatgtgcg	ccacagtccc	300
ctcaccagg	gatcggaacc	agcccagcct	gattccggcg	tgacggacct	caccgtgaac	360
aagtccccgc	attactcaca	gaactcacac	caggatttag	actaagaaac	c atg act	417
					Met Thr	

1

gca	gca	acg	aca	gca	cct	gat	ctg	acc	acc	acc	gcc	ggc	aaa	ctc	gcg	465
Ala	Ala	Thr	Thr	Ala	Pro	Asp	Leu	Thr	Thr	Thr	Ala	Gly	Lys	Leu	Ala	
		5					10					15				
gat	ctc	cgc	gcc	cgc	ctt	tcc	gag	acc	cag	gcc	ccc	atg	ggc	cag	gcc	513
Asp	Leu	Arg	Ala	Arg	Leu	Ser	Glu	Thr	Gln	Ala	Pro	Met	Gly	Gln	Ala	
		20				25					30					
tcc	gtg	gag	aag	gtg	cac	gag	gca	ggg	aag	aag	acc	gca	cgc	gag	cgc	561
Ser	Val	Glu	Lys	Val	His	Glu	Ala	Gly	Lys	Lys	Thr	Ala	Arg	Glu	Arg	
		35			40				45					50		
atc	gag	tac	ctg	ctc	gat	gag	ggc	tcc	ttc	gtt	gag	gtc	gat	gcc	ctc	609
Ile	Glu	Tyr	Leu	Leu	Asp	Glu	Gly	Ser	Phe	Val	Glu	Val	Asp	Ala	Leu	
				55				60					65			
gcc	cgc	cac	cgt	tcc	aag	aac	ttc	ggc	ctg	gac	tcc	aag	cgc	ccg	gtc	657
Ala	Arg	His	Arg	Ser	Lys	Asn	Phe	Gly	Leu	Asp	Ser	Lys	Arg	Pro	Val	
			70				75					80				
acc	gac	ggc	gtg	gtc	acc	ggc	tac	ggc	acc	atc	gac	gga	cgc	aag	gtc	705
Thr	Asp	Gly	Val	Val	Thr	Gly	Tyr	Gly	Thr	Ile	Asp	Gly	Arg	Lys	Val	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

16/123

85					90					95						
tgc	gtc	ttc	tcc	cag	gac	ggc	gct	atc	ttc	ggc	ggg	gcc	ctc	ggg	gag	753
Cys	Val	Phe	Ser	Gln	Asp	Gly	Ala	Ile	Phe	Gly	Gly	Ala	Leu	Gly	Glu	
100					105					110						
gtc	tac	ggc	gag	aag	atc	gtc	aag	atc	atg	gac	ctg	gcc	atc	aag	acc	801
Val	Tyr	Gly	Glu	Lys	Ile	Val	Lys	Ile	Met	Asp	Leu	Ala	Ile	Lys	Thr	
115					120					125					130	
ggg	gtc	ccc	ctc	atc	ggc	atc	aac	gag	ggc	gcc	ggc	gcc	cgc	atc	cag	849
Gly	Val	Pro	Leu	Ile	Gly	Ile	Asn	Glu	Gly	Ala	Gly	Ala	Arg	Ile	Gln	
135					140					145						
gaa	ggc	gtt	gtc	tcc	ctg	ggc	ctg	tac	tcc	cag	atc	ttc	tac	cgc	aac	897
Glu	Gly	Val	Val	Ser	Leu	Gly	Leu	Tyr	Ser	Gln	Ile	Phe	Tyr	Arg	Asn	
150					155					160						
acc	cag	gca	tcc	ggg	gtc	atc	cca	cag	atc	tcc	ctc	atc	atg	ggg	gcc	945
Thr	Gln	Ala	Ser	Gly	Val	Ile	Pro	Gln	Ile	Ser	Leu	Ile	Met	Gly	Ala	
165					170					175						
tgc	gcc	ggg	ggc	cat	gtg	tac	tcc	ccc	gcc	ctg	acc	gac	ttc	atc	atc	993
Cys	Ala	Gly	Gly	His	Val	Tyr	Ser	Pro	Ala	Leu	Thr	Asp	Phe	Ile	Ile	
180					185					190						
atg	gtg	gac	aag	acc	tcc	aag	atg	ttc	atc	acc	ggc	ccc	gac	gtg	atc	1041
Met	Val	Asp	Lys	Thr	Ser	Lys	Met	Phe	Ile	Thr	Gly	Pro	Asp	Val	Ile	
195					200					205					210	
aag	acc	gtc	acc	ggc	gag	gag	gtc	acc	cag	gag	gaa	ctg	ggg	ggg	gcc	1089
Lys	Thr	Val	Thr	Gly	Glu	Glu	Val	Thr	Gln	Glu	Glu	Leu	Gly	Gly	Ala	
215					220					225						
tac	acc	cac	atg	gcc	cag	tcc	ggc	acc	tgc	cac	tac	acc	gca	gcc	gat	1137
Tyr	Thr	His	Met	Ala	Gln	Ser	Gly	Thr	Ser	His	Tyr	Thr	Ala	Ala	Asp	
230					235					240						
gac	tcc	gat	gcc	ctc	gac	tgg	gtc	cgt	gag	ctg	gtc	agc	tac	ctg	ccg	1185
Asp	Ser	Asp	Ala	Leu	Asp	Trp	Val	Arg	Glu	Leu	Val	Ser	Tyr	Leu	Pro	
245					250					255						
tcc	aac	aac	cgt	gcg	gag	acc	cca	cgc	cag	gac	gcc	gac	atc	atg	gtg	1233
Ser	Asn	Asn	Arg	Ala	Glu	Thr	Pro	Arg	Gln	Asp	Ala	Asp	Ile	Met	Val	
260					265					270						
ggc	tcc	atc	aag	gag	aac	atc	acc	gag	acc	gac	ctc	gaa	ctc	gac	acc	1281
Gly	Ser	Ile	Lys	Glu	Asn	Ile	Thr	Glu	Thr	Asp	Leu	Glu	Leu	Asp	Thr	
275					280					285					290	
ctg	atc	ccg	gat	tcc	ccg	aac	cag	ccg	tac	gac	atg	aag	gac	gtc	atc	1329
Leu	Ile	Pro	Asp	Ser	Pro	Asn	Gln	Pro	Tyr	Asp	Met	Lys	Asp	Val	Ile	
295					300					305						
acc	cgc	atc	gtc	gat	gat	gcc	gag	ttc	ttc	gag	atc	cag	gag	ggg	tac	1377
Thr	Arg	Ile	Val	Asp	Asp	Ala	Glu	Phe	Phe	Glu	Ile	Gln	Glu	Gly	Tyr	
310					315					320						

THIS PAGE BLANK (USPTO)

17/123

gcc gag aac atc atc tgc ggt ttc gcc cgc gtc gag ggt cgt gcc gtg	1425
Ala Glu Asn Ile Ile Cys Gly Phe Ala Arg Val Glu Gly Arg Ala Val	
325 330 335	
ggt atc gtg gcc aac cag ccg atg cag ttc gcc ggc tgc ctg gac atc	1473
Gly Ile Val Ala Asn Gln Pro Met Gln Phe Ala Gly Cys Leu Asp Ile	
340 345 350	
aag gca tcc gag aag gcc gcc cgc ttc atc cgc acc tgt gac gcc ttc	1521
Lys Ala Ser Glu Lys Ala Ala Arg Phe Ile Arg Thr Cys Asp Ala Phe	
355 360 365 370	
aac atc ccg atc atc gag ctt gtc gac gtc cca ggc ttc ctc ccg ggc	1569
Asn Ile Pro Ile Ile Glu Leu Val Asp Val Pro Gly Phe Leu Pro Gly	
375 380 385	
acc aac cag gag ttc gac ggc atc atc cgt cgc ggc gcg aag ctg ctc	1617
Thr Asn Gln Glu Phe Asp Gly Ile Ile Arg Arg Gly Ala Lys Leu Leu	
390 395 400	
tac gcc tac gcc gag gcc acc gtc ggc aag atc acc gtg atc acc cgc	1665
Tyr Ala Tyr Ala Glu Ala Thr Val Gly Lys Ile Thr Val Ile Thr Arg	
405 410 415	
aag tcc tac ggc ggt gcc tac tgc gtg atg ggc tcc aag gac atg ggt	1713
Lys Ser Tyr Gly Gly Ala Tyr Cys Val Met Gly Ser Lys Asp Met Gly	
420 425 430	
gcg gac ctc gtc ttc gca tgg ccc acc gcg cag atc gcc gtc atg ggt	1761
Ala Asp Leu Val Phe Ala Trp Pro Thr Ala Gln Ile Ala Val Met Gly	
435 440 445 450	
gcc tcc ggt gcc gtc ggc ttc atc tac cgc aag gag ctc aag cag gct	1809
Ala Ser Gly Ala Val Gly Phe Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Lys Gln Ala	
455 460 465	
gca gcg gcc ggc gag gat gtc acc gcg ctg atg aag aag tac gag cag	1857
Ala Ala Ala Gly Glu Asp Val Thr Ala Leu Met Lys Lys Tyr Glu Gln	
470 475 480	
gag tac gag gag acc ctg gtc aac ccg tac atg gct gca gag cgt ggc	1905
Glu Tyr Glu Glu Thr Leu Val Asn Pro Tyr Met Ala Ala Glu Arg Gly	
485 490 495	
tac gtc gac gcc gtc atc cca cca tcc gag acc cgt ggt cag atc atc	1953
Tyr Val Asp Ala Val Ile Pro Pro Ser Glu Thr Arg Gly Gln Ile Ile	
500 505 510	
gag ggt ctg cgt ctg ctc gac cgc aag gtg gtc aac gtc ccg gcc aag	2001
Glu Gly Leu Arg Leu Leu Asp Arg Lys Val Val Asn Val Pro Ala Lys	
515 520 525 530	
aag cac ggt aac atc ccg ctg taaaccgtct tcccctccgg caccacgccg	2052
Lys His Gly Asn Ile Pro Leu	
535	
gagaaggctt tgtccgcage tgtc	2076

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<210> 8

<211> 537

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 8

```

Met Thr Ala Ala Thr Thr Ala Pro Asp Leu Thr Thr Thr Ala Gly Lys
  1           5           10           15
Leu Ala Asp Leu Arg Ala Arg Leu Ser Glu Thr Gln Ala Pro Met Gly
      20           25           30
Gln Ala Ser Val Glu Lys Val His Glu Ala Gly Lys Lys Thr Ala Arg
      35           40           45
Glu Arg Ile Glu Tyr Leu Leu Asp Glu Gly Ser Phe Val Glu Val Asp
      50           55           60
Ala Leu Ala Arg His Arg Ser Lys Asn Phe Gly Leu Asp Ser Lys Arg
      65           70           75           80
Pro Val Thr Asp Gly Val Val Thr Gly Tyr Gly Thr Ile Asp Gly Arg
      85           90           95
Lys Val Cys Val Phe Ser Gln Asp Gly Ala Ile Phe Gly Gly Ala Leu
      100          105          110
Gly Glu Val Tyr Gly Glu Lys Ile Val Lys Ile Met Asp Leu Ala Ile
      115          120          125
Lys Thr Gly Val Pro Leu Ile Gly Ile Asn Glu Gly Ala Gly Ala Arg
      130          135          140
Ile Gln Glu Gly Val Val Ser Leu Gly Leu Tyr Ser Gln Ile Phe Tyr
      145          150          155          160
Arg Asn Thr Gln Ala Ser Gly Val Ile Pro Gln Ile Ser Leu Ile Met
      165          170          175
Gly Ala Cys Ala Gly Gly His Val Tyr Ser Pro Ala Leu Thr Asp Phe
      180          185          190
Ile Ile Met Val Asp Lys Thr Ser Lys Met Phe Ile Thr Gly Pro Asp
      195          200          205
Val Ile Lys Thr Val Thr Gly Glu Glu Val Thr Gln Glu Glu Leu Gly
      210          215          220
Gly Ala Tyr Thr His Met Ala Gln Ser Gly Thr Ser His Tyr Thr Ala
      225          230          235          240
Ala Asp Asp Ser Asp Ala Leu Asp Trp Val Arg Glu Leu Val Ser Tyr
      245          250          255
Leu Pro Ser Asn Asn Arg Ala Glu Thr Pro Arg Gln Asp Ala Asp Ile
      260          265          270
Met Val Gly Ser Ile Lys Glu Asn Ile Thr Glu Thr Asp Leu Glu Leu
      275          280          285

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

19/123

Asp Thr Leu Ile Pro Asp Ser Pro Asn Gln Pro Tyr Asp Met Lys Asp
 290 295 300
 Val Ile Thr Arg Ile Val Asp Asp Ala Glu Phe Phe Glu Ile Gln Glu
 305 310 315 320
 Gly Tyr Ala Glu Asn Ile Ile Cys Gly Phe Ala Arg Val Glu Gly Arg
 325 330 335
 Ala Val Gly Ile Val Ala Asn Gln Pro Met Gln Phe Ala Gly Cys Leu
 340 345 350
 Asp Ile Lys Ala Ser Glu Lys Ala Ala Arg Phe Ile Arg Thr Cys Asp
 355 360 365
 Ala Phe Asn Ile Pro Ile Ile Glu Leu Val Asp Val Pro Gly Phe Leu
 370 375 380
 Pro Gly Thr Asn Gln Glu Phe Asp Gly Ile Ile Arg Arg Gly Ala Lys
 385 390 395 400
 Leu Leu Tyr Ala Tyr Ala Glu Ala Thr Val Gly Lys Ile Thr Val Ile
 405 410 415
 Thr Arg Lys Ser Tyr Gly Gly Ala Tyr Cys Val Met Gly Ser Lys Asp
 420 425 430
 Met Gly Ala Asp Leu Val Phe Ala Trp Pro Thr Ala Gln Ile Ala Val
 435 440 445
 Met Gly Ala Ser Gly Ala Val Gly Phe Ile Tyr Arg Lys Glu Leu Lys
 450 455 460
 Gln Ala Ala Ala Ala Gly Glu Asp Val Thr Ala Leu Met Lys Lys Tyr
 465 470 475 480
 Glu Gln Glu Tyr Glu Glu Thr Leu Val Asn Pro Tyr Met Ala Ala Glu
 485 490 495
 Arg Gly Tyr Val Asp Ala Val Ile Pro Pro Ser Glu Thr Arg Gly Gln
 500 505 510
 Ile Ile Glu Gly Leu Arg Leu Leu Asp Arg Lys Val Val Asn Val Pro
 515 520 525
 Ala Lys Lys His Gly Asn Ile Pro Leu
 530 535

<210> 9

<211> 1643

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (326)..(1363)

<400> 9

THIS PAGE BLANK (USPTO)

20/123

```

agecgcgccgg cagccaccag tgggategtg cccagcggac ggatgccgga ttcacggcgg 60
tcagccaccc gccgatgaga cctgcagcga caacggtggc ggtgctgacc tggtcagcgt 120
ctttgagttt catatccatg tcagacagtc taaccactct ctccgacgcg tccgaacatg 180
ctgggggtggc ggacaccatg tccgttcggg cgttgccccg acgggggaaa atcgcaggca 240
gatgtgtccg atgtgggata aaccacccgg ttcgggcgtg tcttcgggat caatggcaca 300
gcattaaccg tgtggggggg ttaat atg gga gcc atg cga att gcc act ctc 352
Met Gly Ala Met Arg Ile Ala Thr Leu
      1                      5
acg tca ggc ggc gac tgc ccc gga ctc aat gct gtc atc agg gga atc 400
Thr Ser Gly Gly Asp Cys Pro Gly Leu Asn Ala Val Ile Arg Gly Ile
  10                      15                      20                      25
gtc cgt acc gca agt aat gaa ttc ggt tcc acc gtc gtg ggt tat cag 448
Val Arg Thr Ala Ser Asn Glu Phe Gly Ser Thr Val Val Gly Tyr Gln
      30                      35                      40
gac ggc tgg gag ggc ctg ctg gcg gac cga cgt gtt cag ctc tat gac 496
Asp Gly Trp Glu Gly Leu Leu Ala Asp Arg Arg Val Gln Leu Tyr Asp
      45                      50                      55
gat gag gac atc gac cgc atc ctg ctc cgc ggt gga aca atc ctg ggc 544
Asp Glu Asp Ile Asp Arg Ile Leu Leu Arg Gly Gly Thr Ile Leu Gly
      60                      65                      70
acc ggt cgt ctc cac ccc gac aag ttc aga gcc gga atc gac cag gtc 592
Thr Gly Arg Leu His Pro Asp Lys Phe Arg Ala Gly Ile Asp Gln Val
      75                      80                      85
aag gcg aat ctc gcc gat gcg gga att gac gca ctc atc ccg atc ggt 640
Lys Ala Asn Leu Ala Asp Ala Gly Ile Asp Ala Leu Ile Pro Ile Gly
      90                      95                      100                      105
ggc gag ggc acc ctc aag gga gcg aag tgg ctc gcc gac aac ggc atc 688
Gly Glu Gly Thr Leu Lys Gly Ala Lys Trp Leu Ala Asp Asn Gly Ile
      110                      115                      120
ccc gtg gtc ggt gtc ccg aaa acc atc gac aat gat gtc aac ggc acg 736
Pro Val Val Gly Val Pro Lys Thr Ile Asp Asn Asp Val Asn Gly Thr
      125                      130                      135
gat ttc acc ttc ggt ttc gat tcc gcg gtc tct gtg gcc acc gac gcc 784
Asp Phe Thr Phe Gly Phe Asp Ser Ala Val Ser Val Ala Thr Asp Ala
      140                      145                      150
atc gac cgg ctg cac acc acg gcg gaa tcc cac aac cgt gtg atg atc 832
Ile Asp Arg Leu His Thr Thr Ala Glu Ser His Asn Arg Val Met Ile
      155                      160                      165
gtc gag gtc atg ggc cgc cac gtc ggt tgg atc gca ctg cat gcc ggc 880
Val Glu Val Met Gly Arg His Val Gly Trp Ile Ala Leu His Ala Gly
      170                      175                      180                      185
atg gcc ggt gga gcc cac tac acc gtc atc ccc gag gtg ccc ttc gac 928
Met Ala Gly Gly Ala His Tyr Thr Val Ile Pro Glu Val Pro Phe Asp

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

21/123

190										195					200					
atc	tgc	gag	atc	tgc	aag	cgt	atg	gaa	cgt	cgc	ttc	cag	atg	ggg	gag	976				
Ile	Ser	Glu	Ile	Cys	Lys	Arg	Met	Glu	Arg	Arg	Phe	Gln	Met	Gly	Glu					
205										210					215					
aag	tac	ggc	atc	atc	gtc	gtc	gcg	gag	ggg	gcc	ctg	ccc	aag	gag	gga	1024				
Lys	Tyr	Gly	Ile	Ile	Val	Val	Ala	Glu	Gly	Ala	Leu	Pro	Lys	Glu	Gly					
220										225					230					
acc	atg	gag	ctg	cgt	gag	ggg	gag	gtg	gat	cag	ttc	ggg	cac	aag	acc	1072				
Thr	Met	Glu	Leu	Arg	Glu	Gly	Glu	Val	Asp	Gln	Phe	Gly	His	Lys	Thr					
235										240					245					
ttc	acc	ggc	atc	ggc	cag	cag	atc	gcc	gac	gag	gtg	cac	agg	cgt	ctg	1120				
Phe	Thr	Gly	Ile	Gly	Gln	Gln	Ile	Ala	Asp	Glu	Val	His	Arg	Arg	Leu					
250										255					260					
ggg	cat	gat	gtc	cgc	acc	acg	gtc	ctg	ggc	cat	atc	cag	cgt	ggg	ggc	1168				
Gly	His	Asp	Val	Arg	Thr	Thr	Val	Leu	Gly	His	Ile	Gln	Arg	Gly	Gly					
270										275					280					
acc	ccc	acc	gcc	ttc	gac	cgt	gtc	ctg	gcc	acc	cgg	tac	ggg	gtc	cgc	1216				
Thr	Pro	Thr	Ala	Phe	Asp	Arg	Val	Leu	Ala	Thr	Arg	Tyr	Gly	Val	Arg					
285										290					295					
gcc	gcg	cgt	gcc	tgc	cac	gag	ggg	cag	ttc	aac	acc	gtg	gtc	gcg	ctc	1264				
Ala	Ala	Arg	Ala	Cys	His	Glu	Gly	Gln	Phe	Asn	Thr	Val	Val	Ala	Leu					
300										305					310					
aag	ggg	gag	cgc	atc	cgg	atg	atc	tcc	ttc	gat	gag	gcc	gtg	ggc	acc	1312				
Lys	Gly	Glu	Arg	Ile	Arg	Met	Ile	Ser	Phe	Asp	Glu	Ala	Val	Gly	Thr					
315										320					325					
ctg	aag	aag	gtg	ccg	atg	gaa	cgc	tgg	gtg	acc	gcc	cag	gct	atg	ttc	1360				
Leu	Lys	Lys	Val	Pro	Met	Glu	Arg	Trp	Val	Thr	Ala	Gln	Ala	Met	Phe					
330										335					340					
ggg	tag	tcagg	gcc	gcatt	ccc	ggg	ttcc	gcgc	ccc	gcggg	gcgc	ggg	gttttt	cat		1413				
Gly																				
gcccc	ggaac	acatc	ggtat	gaaat	cgtga	tatgc	attac	ttgac	gggga	agtgg	gggat	1473								
ccgtc	acctc	gcgtt	gtcca	actac	agccc	gcagc	gcctg	cggga	attct	tcagac	aatc	1533								
cgccg	attcc	ccggc	ccg	tcg	ccgt	ccaac	ccag	tacaat	ctgc	tgccc	ccg	1593								
ggatt	atgag	accgt	atcc	gccc	ggtcgt	ggacg	agttc	gggtccc	gcgc			1643								

<210> 10

<211> 346

<212> PRT

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<400> 10

Met Gly Ala Met Arg Ile Ala Thr Leu Thr Ser Gly Gly Asp Cys Pro

1

5

10

15

THIS PAGE BLANK (USPTO)

22/123

Gly Leu Asn Ala Val Ile Arg Gly Ile Val Arg Thr Ala Ser Asn Glu
 20 25 30
 Phe Gly Ser Thr Val Val Gly Tyr Gln Asp Gly Trp Glu Gly Leu Leu
 35 40 45
 Ala Asp Arg Arg Val Gln Leu Tyr Asp Asp Glu Asp Ile Asp Arg Ile
 50 55 60
 Leu Leu Arg Gly Gly Thr Ile Leu Gly Thr Gly Arg Leu His Pro Asp
 65 70 75 80
 Lys Phe Arg Ala Gly Ile Asp Gln Val Lys Ala Asn Leu Ala Asp Ala
 85 90 95
 Gly Ile Asp Ala Leu Ile Pro Ile Gly Gly Glu Gly Thr Leu Lys Gly
 100 105 110
 Ala Lys Trp Leu Ala Asp Asn Gly Ile Pro Val Val Gly Val Pro Lys
 115 120 125
 Thr Ile Asp Asn Asp Val Asn Gly Thr Asp Phe Thr Phe Gly Phe Asp
 130 135 140
 Ser Ala Val Ser Val Ala Thr Asp Ala Ile Asp Arg Leu His Thr Thr
 145 150 155 160
 Ala Glu Ser His Asn Arg Val Met Ile Val Glu Val Met Gly Arg His
 165 170 175
 Val Gly Trp Ile Ala Leu His Ala Gly Met Ala Gly Gly Ala His Tyr
 180 185 190
 Thr Val Ile Pro Glu Val Pro Phe Asp Ile Ser Glu Ile Cys Lys Arg
 195 200 205
 Met Glu Arg Arg Phe Gln Met Gly Glu Lys Tyr Gly Ile Ile Val Val
 210 215 220
 Ala Glu Gly Ala Leu Pro Lys Glu Gly Thr Met Glu Leu Arg Glu Gly
 225 230 235 240
 Glu Val Asp Gln Phe Gly His Lys Thr Phe Thr Gly Ile Gly Gln Gln
 245 250 255
 Ile Ala Asp Glu Val His Arg Arg Leu Gly His Asp Val Arg Thr Thr
 260 265 270
 Val Leu Gly His Ile Gln Arg Gly Gly Thr Pro Thr Ala Phe Asp Arg
 275 280 285
 Val Leu Ala Thr Arg Tyr Gly Val Arg Ala Ala Arg Ala Cys His Glu
 290 295 300
 Gly Gln Phe Asn Thr Val Val Ala Leu Lys Gly Glu Arg Ile Arg Met
 305 310 315 320
 Ile Ser Phe Asp Glu Ala Val Gly Thr Leu Lys Lys Val Pro Met Glu
 325 330 335
 Arg Trp Val Thr Ala Gln Ala Met Phe Gly
 340 345

THIS PAGE BLANK (USPTO)

23/123

<210> 11
 <211> 498
 <212> DNA
 <213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(498)

<400> 11
 tac tac cag cac gat cca ggt ttc ccc ttc gca cca aag cgc acc ggt 48
 Tyr Tyr Gln His Asp Pro Gly Phe Pro Phe Ala Pro Lys Arg Thr Gly
 1 5 10 15
 tgg gct cac acc acc acg ccg ttg acc gga ccg cag cga ttg cag tgg 96
 Trp Ala His Thr Thr Thr Pro Leu Thr Gly Pro Gln Arg Leu Gln Trp
 20 25 30
 acg cac ctg ccc gat gct ctt tac ccg gat gta tcc tat gac ctg gat 144
 Thr His Leu Pro Asp Ala Leu Tyr Pro Asp Val Ser Tyr Asp Leu Asp
 35 40 45
 gga tgc tat tcc ggc gga gcc gta ttt tct gac ggc acg ctt aaa ctt 192
 Gly Cys Tyr Ser Gly Gly Ala Val Phe Ser Asp Gly Thr Leu Lys Leu
 50 55 60
 ttc tac acc ggc aac cga aaa att gac ggc aag cgc cgc gcc acc caa 240
 Phe Tyr Thr Gly Asn Arg Lys Ile Asp Gly Lys Arg Arg Ala Thr Gln
 65 70 75 80
 aac ctc gtc gaa gtc gag gac cca act ggg ctg atg ggc ggc att cat 288
 Asn Leu Val Glu Val Glu Asp Pro Thr Gly Leu Met Gly Gly Ile His
 85 90 95
 cgc cgc tcg cct aaa aat ccg ctt atc gac gga ccc gcc agc ggt ttt 336
 Arg Arg Ser Pro Lys Asn Pro Leu Ile Asp Gly Pro Ala Ser Gly Phe
 100 105 110
 acg ccc cac tac cgc gat ccc atg atc agc cct gat ggg gat ggt tgg 384
 Thr Pro His Tyr Arg Asp Pro Met Ile Ser Pro Asp Gly Asp Gly Trp
 115 120 125
 aag atg gtt ctt ggg gct cag cgc gaa aac ctc acc ggt gca gcg gtt 432
 Lys Met Val Leu Gly Ala Gln Arg Glu Asn Leu Thr Gly Ala Ala Val
 130 135 140
 cta tac cgc tcg gca gat ctt gaa aac tgg gaa ttc tcc ggt gaa atc 480
 Leu Tyr Arg Ser Ala Asp Leu Glu Asn Trp Glu Phe Ser Gly Glu Ile
 145 150 155 160
 acc ttt gac ctc agc gac 498
 Thr Phe Asp Leu Ser Asp
 165

THIS PAGE BLANK (USPTO)

24/123

<210> 12

<211> 166

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 12

```

Tyr Tyr Gln His Asp Pro Gly Phe Pro Phe Ala Pro Lys Arg Thr Gly
 1           5           10           15
Trp Ala His Thr Thr Thr Pro Leu Thr Gly Pro Gln Arg Leu Gln Trp
           20           25           30
Thr His Leu Pro Asp Ala Leu Tyr Pro Asp Val Ser Tyr Asp Leu Asp
           35           40           45
Gly Cys Tyr Ser Gly Gly Ala Val Phe Ser Asp Gly Thr Leu Lys Leu
           50           55           60
Phe Tyr Thr Gly Asn Arg Lys Ile Asp Gly Lys Arg Arg Ala Thr Gln
           65           70           75           80
Asn Leu Val Glu Val Glu Asp Pro Thr Gly Leu Met Gly Gly Ile His
           85           90           95
Arg Arg Ser Pro Lys Asn Pro Leu Ile Asp Gly Pro Ala Ser Gly Phe
           100          105          110
Thr Pro His Tyr Arg Asp Pro Met Ile Ser Pro Asp Gly Asp Gly Trp
           115          120          125
Lys Met Val Leu Gly Ala Gln Arg Glu Asn Leu Thr Gly Ala Ala Val
           130          135          140
Leu Tyr Arg Ser Ala Asp Leu Glu Asn Trp Glu Phe Ser Gly Glu Ile
           145          150          155          160
Thr Phe Asp Leu Ser Asp
           165

```

<210> 13

<211> 479

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(477)

<400> 13

```

tac tac cag cac gat cca ggt ttc ccc ttc gca cca aag cgc acc ggc 48
Tyr Tyr Gln His Asp Pro Gly Phe Pro Phe Ala Pro Lys Arg Thr Gly
 1           5           10           15

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

25/123

tgg gct cac acc acc acg ccg ttg acc gga ccg cag cga ttg cag tgg	96
Trp Ala His Thr Thr Thr Pro Leu Thr Gly Pro Gln Arg Leu Gln Trp	
20 25 30	
acg cac ctg ccc gac gct ctt tac ccg gat gca tcc tat gac ctg gat	144
Thr His Leu Pro Asp Ala Leu Tyr Pro Asp Ala Ser Tyr Asp Leu Asp	
35 40 45	
gga tgc tat tcc ggt gga gcc gta ttt act gac ggc aca ctt aaa ctt	192
Gly Cys Tyr Ser Gly Gly Ala Val Phe Thr Asp Gly Thr Leu Lys Leu	
50 55 60	
ttc tac acc ggc aac cta aaa att gac ggc aag cgc cgc gcc acc caa	240
Phe Tyr Thr Gly Asn Leu Lys Ile Asp Gly Lys Arg Arg Ala Thr Gln	
65 70 75 80	
aac ctc gtc gaa gtc gag gac cca act ggg ctg atg ggc ggc att cat	288
Asn Leu Val Glu Val Glu Asp Pro Thr Gly Leu Met Gly Gly Ile His	
85 90 95	
cgc cgt tcg cct aaa aat ccg ctt atc gac gga ccc gcc agc ggt ttc	336
Arg Arg Ser Pro Lys Asn Pro Leu Ile Asp Gly Pro Ala Ser Gly Phe	
100 105 110	
aca ccc cat tac cgc gat ccc atg atc agc cct gat ggt gat ggt tgg	384
Thr Pro His Tyr Arg Asp Pro Met Ile Ser Pro Asp Gly Asp Gly Trp	
115 120 125	
aaa atg gtt ctt ggg gcc caa cgc gaa aac ctc acc ggt gca gcg gtt	432
Lys Met Val Leu Gly Ala Gln Arg Glu Asn Leu Thr Gly Ala Ala Val	
130 135 140	
cta tac cgc tcg aca gat ctt gaa aac tgg gaa ttc tcc ggt gaa at	479
Leu Tyr Arg Ser Thr Asp Leu Glu Asn Trp Glu Phe Ser Gly Glu	
145 150 155	

<210> 14

<211> 159

<212> PRT

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<400> 14

Tyr Tyr Gln His Asp Pro Gly Phe Pro Phe Ala Pro Lys Arg Thr Gly	
1 5 10 15	
Trp Ala His Thr Thr Thr Pro Leu Thr Gly Pro Gln Arg Leu Gln Trp	
20 25 30	
Thr His Leu Pro Asp Ala Leu Tyr Pro Asp Ala Ser Tyr Asp Leu Asp	
35 40 45	
Gly Cys Tyr Ser Gly Gly Ala Val Phe Thr Asp Gly Thr Leu Lys Leu	
50 55 60	
Phe Tyr Thr Gly Asn Leu Lys Ile Asp Gly Lys Arg Arg Ala Thr Gln	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

26/123

65		70		75		80									
Asn	Leu	Val	Glu	Val	Glu	Asp	Pro	Thr	Gly	Leu	Met	Gly	Gly	Ile	His
			85						90					95	
Arg	Arg	Ser	Pro	Lys	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gly	Pro	Ala	Ser	Gly	Phe
			100					105					110		
Thr	Pro	His	Tyr	Arg	Asp	Pro	Met	Ile	Ser	Pro	Asp	Gly	Asp	Gly	Trp
		115					120					125			
Lys	Met	Val	Leu	Gly	Ala	Gln	Arg	Glu	Asn	Leu	Thr	Gly	Ala	Ala	Val
	130					135				140					
Leu	Tyr	Arg	Ser	Thr	Asp	Leu	Glu	Asn	Trp	Glu	Phe	Ser	Gly	Glu	
145					150					155					

<210> 15

<211> 490

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 15

```

attttaatgg atattatcta tattttatca atattatcct tatgcacctg aatggggacc 60
aatgcattgg ggacacgcac gtagtaaaga tttagttcat tgggaaacat taccgattgc 120
tttagaacct ggagatgaag aagaaaaatg gttgtttctc tggtagaggt atagtcaaag 180
atgataagtt gtatttattt tatacaggtc accattatta taatgacgat gatcccgatc 240
atttttggca aaatcaaaaat atggettata gtgaagatgg cattcatttt caaaaatata 300
aacaaaatgc aatcattcct accccacctg aagataatac acatcacttc agagatccaa 360
aggtatggga acatccatgg cttattatta catgatagta ggtagtcaaa atgatagaga 420
attaggacgt attatcttat atcgttctga ggatttatag aggggaattc tggtcctgag 480
atcaatccaa                                     490

```

<210> 16

<211> 4254

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (637)..(1362)

<220>

<221> CDS

<222> (1434)..(2315)

<220>

<221> CDS

<222> (2432)..(3115)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<220>

<221> CDS

<222> (3235)..(4065)

<400> 16

```

tcacggcgcg cagattaccc agtgtgccgt agagacgctg atcggcattc tcacgcaccg 60
cgcaggtggt gaagacgatg agatcagggg tgtcacccctc ccccgccgcg gtgtaaccgg 120
cctcctegag cagaccggag agacgctcgg aatcgtggac gttcatctgg cagccgaagg 180
tacgcacctc ataggtgcgg gcagtgggtgc cctcccgggt ccccgcgccc gggaggggtgt 240
cggcgggggtg gtccgggtgg gatggatggg tgttcactctg gtgggtatca atctgctgcg 300
tcacgggagg taattgtatc ggccgcgggc accctgacat aaacgtccga tccagaggaa 360
cgcaaccccg tggagtgtcg cagccatgca ggttgggcaa caccgtaacg gaacctagca 420
gagtggtagg attgacttca cattctttac ctattgagct attgataaaa tccgggcgga 480
aatggaaatc acccccacaa atcaccccaa ctgacctgtg gaaagggcga gaaatccagg 540
gaaattcatt tcaaaatgga ctcaatcaca ggatttacct cacatgacct aacattcett 600
tatgctatcc ccatgacgca gaccacaaat caccgc atg atc aag atg acg ggg 654
                                Met Ile Lys Met Thr Gly
                                1                               5

gtg cag aag ttc ttc gat gac ttc cag gcc ctg acc gat atc aat ctt 702
Val Gln Lys Phe Phe Asp Asp Phe Gln Ala Leu Thr Asp Ile Asn Leu
                                10                               15                               20

gag gtc ccc gcg gga cag gtc gtt gtt gtt ctc ggc ccg tcc ggt tcc 750
Glu Val Pro Ala Gly Gln Val Val Val Val Leu Gly Pro Ser Gly Ser
                                25                               30                               35

gga aag tcg acg ctg tgc cgc acc atc aac cgc ctc gaa acc atc gag 798
Gly Lys Ser Thr Leu Cys Arg Thr Ile Asn Arg Leu Glu Thr Ile Glu
                                40                               45                               50

gag gga acc atc gag atc gat gga aaa ctg ctt ccg gag gag ggc aag 846
Glu Gly Thr Ile Glu Ile Asp Gly Lys Leu Leu Pro Glu Glu Gly Lys
                                55                               60                               65                               70

gac ctg gcc aag atc cgt gcc gac gtg ggc atg gtg ttc cag tct ttc 894
Asp Leu Ala Lys Ile Arg Ala Asp Val Gly Met Val Phe Gln Ser Phe
                                75                               80                               85

aac ctc ttc ccc cac ctc acc atc aag gac aat gtc acc ctc ggc ccg 942
Asn Leu Phe Pro His Leu Thr Ile Lys Asp Asn Val Thr Leu Gly Pro
                                90                               95                               100

atg aag gtc cgg aag atg aag aag tcc gag gcc aat gag gtg gcc atg 990
Met Lys Val Arg Lys Met Lys Lys Ser Glu Ala Asn Glu Val Ala Met
                                105                               110                               115

aag ctg ttg gaa cgc gtc ggc atc gcc aac cag gcc gag aaa tac ccg 1038
Lys Leu Leu Glu Arg Val Gly Ile Ala Asn Gln Ala Glu Lys Tyr Pro
                                120                               125                               130

gca cag ctc tcg ggc ggg cag cag cag cgc gtg gcc atc gcc cgc gca 1086

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

28/123

Ala Gln Leu Ser Gly Gly Gln Gln Gln Arg Val Ala Ile Ala Arg Ala	
135 140 145 150	
ctg gcg atg aac ccc aag atc atg ctt ttc gac gaa cca acc tcc gcc	1134
Leu Ala Met Asn Pro Lys Ile Met Leu Phe Asp Glu Pro Thr Ser Ala	
155 160 165	
ctc gac ccc gag atg gtc aac gag gtt ctg gac gtc atg gcg agt ctg	1182
Leu Asp Pro Glu Met Val Asn Glu Val Leu Asp Val Met Ala Ser Leu	
170 175 180	
gcc aag gaa ggc atg acc atg gtg tgt gtc acc cac gag atg ggt ttc	1230
Ala Lys Glu Gly Met Thr Met Val Cys Val Thr His Glu Met Gly Phe	
185 190 195	
gca cgc agg gcc gca gac cgt gtg ctg ttc atg tct gac ggc gcc atc	1278
Ala Arg Arg Ala Ala Asp Arg Val Leu Phe Met Ser Asp Gly Ala Ile	
200 205 210	
gtc gag gac tcc gac ccg gag acc ttc ttc acc aat cca caa acc gac	1326
Val Glu Asp Ser Asp Pro Glu Thr Phe Phe Thr Asn Pro Gln Thr Asp	
215 220 225 230	
cgg gcg aag gat ttc ctg ggc aag atc ctc gcc cac tgacctcccc	1372
Arg Ala Lys Asp Phe Leu Gly Lys Ile Leu Ala His	
235 240	
tcactctgtg tccaactccc ccgctggcca aaatcagcga ccatgaccaa caggagcacc	1432
a atg tgc cac aaa cgc atg ttc acc cgt ctc gcc gca gcc acc agc gca	1481
Met Ser His Lys Arg Met Phe Thr Arg Leu Ala Ala Ala Thr Ser Ala	
245 250 255	
gct gtt ctc gcc ggc atc acc ctc acc gcc tgt ggt gat tcc gag ggt	1529
Ala Val Leu Ala Gly Ile Thr Leu Thr Ala Cys Gly Asp Ser Glu Gly	
260 265 270	
ggt gac ggt ctg ctc gcc gcc atc gaa aat ggc aat gtc acc atc ggc	1577
Gly Asp Gly Leu Leu Ala Ala Ile Glu Asn Gly Asn Val Thr Ile Gly	
275 280 285 290	
acc aag tac gat cag ccg ggt ctg gga ctg cgt aac ccg gac aat tcc	1625
Thr Lys Tyr Asp Gln Pro Gly Leu Gly Leu Arg Asn Pro Asp Asn Ser	
295 300 305	
atg agc gga ctg gat gtc gac gtc gcg cag tac gtg gtc aac tcc atc	1673
Met Ser Gly Leu Asp Val Asp Val Ala Gln Tyr Val Val Asn Ser Ile	
310 315 320	
gcc gat gac aac ggt tgg gat cac ccc acc gtg gaa tgg cgc gag acc	1721
Ala Asp Asp Asn Gly Trp Asp His Pro Thr Val Glu Trp Arg Glu Thr	
325 330 335	
ccc tcc gcc cag cgc gag acc ctc atc cag aac ggt gag gtg gat atg	1769
Pro Ser Ala Gln Arg Glu Thr Leu Ile Gln Asn Gly Glu Val Asp Met	
340 345 350	
atc gcc gca acc tac tcc atc aac ccc gga cgc tcc gaa tgc gtg aac	1817

THIS PAGE BLANK (USPTO)

29/123

Ile	Ala	Ala	Thr	Tyr	Ser	Ile	Asn	Pro	Gly	Arg	Ser	Glu	Ser	Val	Asn	
355					360					365					370	
ttc	ggt	gga	cca	tac	ctc	ctc	acc	cac	cag	gcc	ctc	ctg	gtc	cgc	gag	1865
Phe	Gly	Gly	Pro	Tyr	Leu	Leu	Thr	His	Gln	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Glu	
				375					380					385		
gac	gat	gac	cgc	atc	cag	acc	ctc	gag	gac	ctc	gat	gac	ggc	ctg	atc	1913
Asp	Asp	Asp	Arg	Ile	Gln	Thr	Leu	Glu	Asp	Leu	Asp	Asp	Gly	Leu	Ile	
			390					395					400			
ctg	tgt	tcc	ggt	acc	gga	tcc	acc	ccc	gcc	cag	aag	gtc	aag	gat	gtc	1961
Leu	Cys	Ser	Val	Thr	Gly	Ser	Thr	Pro	Ala	Gln	Lys	Val	Lys	Asp	Val	
	405						410					415				
ctc	ccc	ggc	gtc	cag	ctg	cag	gaa	tac	gac	acc	tac	tcc	tcc	tgt	gtg	2009
Leu	Pro	Gly	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Tyr	Asp	Thr	Tyr	Ser	Ser	Cys	Val	
	420					425				430						
gag	gca	ctg	agc	cag	ggc	aac	gtc	gat	gca	atg	acc	acc	gac	gcc	acc	2057
Glu	Ala	Leu	Ser	Gln	Gly	Asn	Val	Asp	Ala	Met	Thr	Thr	Asp	Ala	Thr	
435					440				445					450		
atc	ctc	ttc	ggc	tac	gcg	cag	cag	cgc	gaa	ggt	gaa	ttc	cgc	gtc	gtg	2105
Ile	Leu	Phe	Gly	Tyr	Ala	Gln	Gln	Arg	Glu	Gly	Glu	Phe	Arg	Val	Val	
			455					460					465			
gag	atg	gaa	cag	gac	ggc	gag	ccg	ttc	acc	aat	gag	tac	tac	ggc	atc	2153
Glu	Met	Glu	Gln	Asp	Gly	Glu	Pro	Phe	Thr	Asn	Glu	Tyr	Tyr	Gly	Ile	
			470					475					480			
ggt	atc	acc	aag	gat	gac	acc	gaa	gcc	acc	gat	gcg	atc	aac	gca	gcg	2201
Gly	Ile	Thr	Lys	Asp	Asp	Thr	Glu	Ala	Thr	Asp	Ala	Ile	Asn	Ala	Ala	
	485						490					495				
ttg	gag	cgt	atg	tac	gcc	gac	ggt	tcc	ttc	cag	cgt	ttc	ctc	acc	gag	2249
Leu	Glu	Arg	Met	Tyr	Ala	Asp	Gly	Ser	Phe	Gln	Arg	Phe	Leu	Thr	Glu	
	500					505				510						
aac	ctc	ggc	gag	gat	tcc	cag	gtt	gtc	cag	gag	ggc	acc	ccg	ggt	gac	2297
Asn	Leu	Gly	Glu	Asp	Ser	Gln	Val	Val	Gln	Glu	Gly	Thr	Pro	Gly	Asp	
515				520				525					530			
ctc	tcc	ttc	ctg	gac	gag	tgacctgacg	gggccgaacg	cccgatgagc								2345
Leu	Ser	Phe	Leu	Asp	Glu											
				535												
atgcgtggcc	cccgcacccc	gggggtgccac	gcacatcac	tttcaccact	gateccctac											2405
cggttccttac	cgaggagaaa	ttcccc	atg agt	aca tta	tgg gcg	gat ctg	ggt									2458
			Met Ser	Thr Leu	Trp Ala	Asp Leu	Gly									
					540		545									
ccg	tca	ctc	cta	ccc	gca	ttc	tgg	gtg	aca	atc	caa	ctc	acc	gtc	tat	2506
Pro	Ser	Leu	Leu	Pro	Ala	Phe	Trp	Val	Thr	Ile	Gln	Leu	Thr	Val	Tyr	
				550				555					560			
tcc	gcc	atc	gga	tcc	atg	atc	ctc	ggt	acc	atc	ctc	acc	gcc	atg	agg	2554

THIS PAGE BLANK (USPTO)

30/123

Ser	Ala	Ile	Gly	Ser	Met	Ile	Leu	Gly	Thr	Ile	Leu	Thr	Ala	Met	Arg		
			565														
gtg	tcc	ccg	gtg	aag	atc	ctg	cgc	agc	ata	tcc	acc	gcc	tac	atc	aac	2602	
Val	Ser	Pro	Val	Lys	Ile	Leu	Arg	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr	Ile	Asn		
		580					585					590					
acg	gtc	cgt	aac	acc	cca	ctg	acc	ctg	gtg	atc	ctg	ttc	tgt	tcc	ttc	2650	
Thr	Val	Arg	Asn	Thr	Pro	Leu	Thr	Leu	Val	Ile	Leu	Phe	Cys	Ser	Phe		
		595				600					605						
ggc	ctg	tat	cag	aat	ctc	ggt	ctc	acc	ctc	gcc	ggt	cgc	gac	agt	tcc	2698	
Gly	Leu	Tyr	Gln	Asn	Leu	Gly	Leu	Thr	Leu	Ala	Gly	Arg	Asp	Ser	Ser		
610					615					620					625		
acc	ttt	ctg	gcc	gat	aac	aac	ttc	cgg	ctc	gcg	gtg	ctc	gga	ttc	atc	2746	
Thr	Phe	Leu	Ala	Asp	Asn	Asn	Phe	Arg	Leu	Ala	Val	Leu	Gly	Phe	Ile		
				630						635				640			
ctg	tac	acc	tcc	gcc	ttc	gtt	gcg	gaa	tca	ctc	cgg	tca	ggc	atc	aac	2794	
Leu	Tyr	Thr	Ser	Ala	Phe	Val	Ala	Glu	Ser	Leu	Arg	Ser	Gly	Ile	Asn		
			645					650					655				
acc	gtg	cac	ttc	ggg	cag	gcg	gag	gcc	gcc	cgg	tcg	ctg	gga	ctc	ggt	2842	
Thr	Val	His	Phe	Gly	Gln	Ala	Glu	Ala	Ala	Arg	Ser	Leu	Gly	Leu	Gly		
		660					665					670					
ttc	agt	gac	atc	ttc	cgg	tcc	atc	atc	ttc	ccc	cag	gcg	gtg	cgt	gcc	2890	
Phe	Ser	Asp	Ile	Phe	Arg	Ser	Ile	Ile	Phe	Pro	Gln	Ala	Val	Arg	Ala		
		675				680					685						
gcc	atc	atc	ccg	ctg	ggc	aac	acc	ctc	atc	gcc	ctg	acc	aag	aac	acc	2938	
Ala	Ile	Ile	Pro	Leu	Gly	Asn	Thr	Leu	Ile	Ala	Leu	Thr	Lys	Asn	Thr		
690					695					700					705		
acg	atc	gcg	tcc	gtg	atc	ggc	gtc	ggt	gag	gcc	tcg	ctg	ctg	atg	aag	2986	
Thr	Ile	Ala	Ser	Val	Ile	Gly	Val	Gly	Glu	Ala	Ser	Leu	Leu	Met	Lys		
			710					715					720				
tcc	acg	att	gaa	aat	cat	gcc	aac	atg	ctc	ttc	gtc	gtg	ttc	gcc	atc	3034	
Ser	Thr	Ile	Glu	Asn	His	Ala	Asn	Met	Leu	Phe	Val	Val	Phe	Ala	Ile		
			725					730					735				
ttc	gcc	gtc	ggc	ttc	atg	atc	ctc	acc	ctc	ccc	atg	ggc	ctg	ggg	ctt	3082	
Phe	Ala	Val	Gly	Phe	Met	Ile	Leu	Thr	Leu	Pro	Met	Gly	Leu	Gly	Leu		
		740					745					750					
gga	aaa	ctc	gct	gag	aaa	atg	gcg	gtg	aag	aaa	taatgtcctc	ctccgtacgc	3135				
Gly	Lys	Leu	Ala	Glu	Lys	Met	Ala	Val	Lys	Lys							
		755				760											
gcaacagtc	tctacgacgc	ccccggcccc	cggggacgca	ggtccaacac	catcatcacc	3195											
atcgccacca	ccctggtggc	agtggccgtc	ctgttctgg	gtg ggc	agt gtt ctc	3249											
				Val Gly Ser Val Leu													
				765													
cag	gaa	aac	ggc	cag	ttg	gac	ggc	gac	aaa	tgg	acc	ccg	ttc	ctc	gat	3297	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

31/123

Gln	Glu	Asn	Gly	Gln	Leu	Asp	Gly	Asp	Lys	Trp	Thr	Pro	Phe	Leu	Asp	
770					775					780					785	
ccc	cag	acc	tgg	acc	acc	tat	ctt	ctg	ccc	ggc	ctg	tgg	gga	acc	ctg	3345
Pro	Gln	Thr	Trp	Thr	Thr	Tyr	Leu	Leu	Pro	Gly	Leu	Trp	Gly	Thr	Leu	
				790					795					800		
aag	gca	gcg	gtg	gcc	tcc	atc	ctt	ctc	gcg	ctg	atc	atg	ggc	acc	ctg	3393
Lys	Ala	Ala	Val	Ala	Ser	Ile	Leu	Leu	Ala	Leu	Ile	Met	Gly	Thr	Leu	
			805					810					815			
ctc	ggg	ctc	gga	cgc	atc	tcc	gaa	atc	cgg	ctc	ctg	cgc	tgg	ttc	tgc	3441
Leu	Gly	Leu	Gly	Arg	Ile	Ser	Glu	Ile	Arg	Leu	Leu	Arg	Trp	Phe	Cys	
			820				825					830				
ggg	atc	atc	atc	gag	acc	ttc	cgt	gcc	atc	ccg	gtg	ctg	atc	ctc	atg	3489
Gly	Ile	Ile	Ile	Glu	Thr	Phe	Arg	Ala	Ile	Pro	Val	Leu	Ile	Leu	Met	
			835			840					845					
atc	ttc	gcc	tat	cag	ttg	ttc	gcc	cgt	tac	cag	ctc	gtt	cca	tca	cgc	3537
Ile	Phe	Ala	Tyr	Gln	Leu	Phe	Ala	Arg	Tyr	Gln	Leu	Val	Pro	Ser	Arg	
850					855				860						865	
cag	ctg	gcc	ttc	gcc	gcg	gtg	gtc	ttc	ggg	ctc	acc	atg	tac	aac	ggc	3585
Gln	Leu	Ala	Phe	Ala	Ala	Val	Val	Phe	Gly	Leu	Thr	Met	Tyr	Asn	Gly	
			870					875						880		
tcc	gtc	atc	gcc	gag	atc	ctt	aga	tcg	ggg	atc	gcc	tcc	ctg	ccg	aag	3633
Ser	Val	Ile	Ala	Glu	Ile	Leu	Arg	Ser	Gly	Ile	Ala	Ser	Leu	Pro	Lys	
			885					890					895			
gga	cag	cgt	gag	gcg	gcg	atc	gcc	ctg	ggc	atg	tca	acc	cgc	cag	acc	3681
Gly	Gln	Arg	Glu	Ala	Ala	Ile	Ala	Leu	Gly	Met	Ser	Thr	Arg	Gln	Thr	
			900				905					910				
acc	tgg	tcg	atc	ctg	ctc	ccc	cag	gcg	gtg	gca	gcg	atg	ctg	ccc	gcc	3729
Thr	Trp	Ser	Ile	Leu	Leu	Pro	Gln	Ala	Val	Ala	Ala	Met	Leu	Pro	Ala	
			915			920					925					
ctg	atc	gcg	cag	atg	gtc	atc	gcg	ctg	aag	gac	tcc	gcc	ctc	ggg	tac	3777
Leu	Ile	Ala	Gln	Met	Val	Ile	Ala	Leu	Lys	Asp	Ser	Ala	Leu	Gly	Tyr	
930					935					940					945	
cag	atc	ggg	tat	atc	gag	gtg	gta	cgc	tcc	ggg	atc	cag	tcc	gca	tcc	3825
Gln	Ile	Gly	Tyr	Ile	Glu	Val	Val	Arg	Ser	Gly	Ile	Gln	Ser	Ala	Ser	
			950					955					960			
gtc	aac	cgg	aac	tac	ctg	gct	gcc	ctc	gcg	gtg	gtc	gcg	gtc	atc	atg	3873
Val	Asn	Arg	Asn	Tyr	Leu	Ala	Ala	Leu	Ala	Val	Val	Ala	Val	Ile	Met	
			965					970					975			
atc	ctg	atc	aac	ttc	gca	ctg	acc	gca								

THIS PAGE BLANK (USPTO)

32/123

995 1000 1005
 gag gaa ccc gat cag ggc ctg gat acc aag gac aat gtg aac gtg gat 4017
 Glu Glu Pro Asp Gln Gly Leu Asp Thr Lys Asp Asn Val Asn Val Asp
 1010 1015 1020 1025
 tgg cac gat ccc gat tac aag gaa gtc aaa cac ccg gga ccg tca ttc 4065
 Trp His Asp Pro Asp Tyr Lys Glu Val Lys His Pro Gly Pro Ser Phe
 1030 1035 1040
 tgacaggtcc ctggatcccc gctgcgggtc ggaggcgggt gcaacaatga agtccggctg 4125
 cccagatgtc tggggcagcc ggactttgtg gcagatcaat gctgactgag gtcctcgatg 4185
 cgctcatcga gagcctcccg ggccagggtc atcgacatac ccgcggggaa tccacgacgg 4245
 gcaagtgtc 4254

<210> 17

<211> 242

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 17

Met Ile Lys Met Thr Gly Val Gln Lys Phe Phe Asp Asp Phe Gln Ala
 1 5 10 15
 Leu Thr Asp Ile Asn Leu Glu Val Pro Ala Gly Gln Val Val Val Val
 20 25 30
 Leu Gly Pro Ser Gly Ser Gly Lys Ser Thr Leu Cys Arg Thr Ile Asn
 35 40 45
 Arg Leu Glu Thr Ile Glu Glu Gly Thr Ile Glu Ile Asp Gly Lys Leu
 50 55 60
 Leu Pro Glu Glu Gly Lys Asp Leu Ala Lys Ile Arg Ala Asp Val Gly
 65 70 75 80
 Met Val Phe Gln Ser Phe Asn Leu Phe Pro His Leu Thr Ile Lys Asp
 85 90 95
 Asn Val Thr Leu Gly Pro Met Lys Val Arg Lys Met Lys Lys Ser Glu
 100 105 110
 Ala Asn Glu Val Ala Met Lys Leu Leu Glu Arg Val Gly Ile Ala Asn
 115 120 125
 Gln Ala Glu Lys Tyr Pro Ala Gln Leu Ser Gly Gly Gln Gln Gln Arg
 130 135 140
 Val Ala Ile Ala Arg Ala Leu Ala Met Asn Pro Lys Ile Met Leu Phe
 145 150 155 160
 Asp Glu Pro Thr Ser Ala Leu Asp Pro Glu Met Val Asn Glu Val Leu
 165 170 175
 Asp Val Met Ala Ser Leu Ala Lys Glu Gly Met Thr Met Val Cys Val
 180 185 190
 Thr His Glu Met Gly Phe Ala Arg Arg Ala Ala Asp Arg Val Leu Phe

THIS PAGE BLANK (USPTO)

33/123

195	200	205
Met Ser Asp Gly Ala Ile Val Glu Asp Ser Asp Pro Glu Thr Phe Phe		
210	215	220
Thr Asn Pro Gln Thr Asp Arg Ala Lys Asp Phe Leu Gly Lys Ile Leu		
225	230	235
Ala His		240

<210> 18

<211> 294

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 18

Met Ser His Lys Arg Met Phe Thr Arg Leu Ala Ala Ala Thr Ser Ala		
1	5	10
Ala Val Leu Ala Gly Ile Thr Leu Thr Ala Cys Gly Asp Ser Glu Gly		
20	25	30
Gly Asp Gly Leu Leu Ala Ala Ile Glu Asn Gly Asn Val Thr Ile Gly		
35	40	45
Thr Lys Tyr Asp Gln Pro Gly Leu Gly Leu Arg Asn Pro Asp Asn Ser		
50	55	60
Met Ser Gly Leu Asp Val Asp Val Ala Gln Tyr Val Val Asn Ser Ile		
65	70	75
Ala Asp Asp Asn Gly Trp Asp His Pro Thr Val Glu Trp Arg Glu Thr		
85	90	95
Pro Ser Ala Gln Arg Glu Thr Leu Ile Gln Asn Gly Glu Val Asp Met		
100	105	110
Ile Ala Ala Thr Tyr Ser Ile Asn Pro Gly Arg Ser Glu Ser Val Asn		
115	120	125
Phe Gly Gly Pro Tyr Leu Leu Thr His Gln Ala Leu Leu Val Arg Glu		
130	135	140
Asp Asp Asp Arg Ile Gln Thr Leu Glu Asp Leu Asp Asp Gly Leu Ile		
145	150	155
Leu Cys Ser Val Thr Gly Ser Thr Pro Ala Gln Lys Val Lys Asp Val		
165	170	175
Leu Pro Gly Val Gln Leu Gln Glu Tyr Asp Thr Tyr Ser Ser Cys Val		
180	185	190
Glu Ala Leu Ser Gln Gly Asn Val Asp Ala Met Thr Thr Asp Ala Thr		
195	200	205
Ile Leu Phe Gly Tyr Ala Gln Gln Arg Glu Gly Glu Phe Arg Val Val		
210	215	220
Glu Met Glu Gln Asp Gly Glu Pro Phe Thr Asn Glu Tyr Tyr Gly Ile		
225	230	235
		240

THIS PAGE BLANK (USPTO)

34/123

Gly Ile Thr Lys Asp Asp Thr Glu Ala Thr Asp Ala Ile Asn Ala Ala
 245 250 255
 Leu Glu Arg Met Tyr Ala Asp Gly Ser Phe Gln Arg Phe Leu Thr Glu
 260 265 270
 Asn Leu Gly Glu Asp Ser Gln Val Val Gln Glu Gly Thr Pro Gly Asp
 275 280 285
 Leu Ser Phe Leu Asp Glu
 290

<210> 19

<211> 228

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 19

Met Ser Thr Leu Trp Ala Asp Leu Gly Pro Ser Leu Leu Pro Ala Phe
 1 5 10 15
 Trp Val Thr Ile Gln Leu Thr Val Tyr Ser Ala Ile Gly Ser Met Ile
 20 25 30
 Leu Gly Thr Ile Leu Thr Ala Met Arg Val Ser Pro Val Lys Ile Leu
 35 40 45
 Arg Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Ile Asn Thr Val Arg Asn Thr Pro Leu
 50 55 60
 Thr Leu Val Ile Leu Phe Cys Ser Phe Gly Leu Tyr Gln Asn Leu Gly
 65 70 75 80
 Leu Thr Leu Ala Gly Arg Asp Ser Ser Thr Phe Leu Ala Asp Asn Asn
 85 90 95
 Phe Arg Leu Ala Val Leu Gly Phe Ile Leu Tyr Thr Ser Ala Phe Val
 100 105 110
 Ala Glu Ser Leu Arg Ser Gly Ile Asn Thr Val His Phe Gly Gln Ala
 115 120 125
 Glu Ala Ala Arg Ser Leu Gly Leu Gly Phe Ser Asp Ile Phe Arg Ser
 130 135 140
 Ile Ile Phe Pro Gln Ala Val Arg Ala Ala Ile Ile Pro Leu Gly Asn
 145 150 155 160
 Thr Leu Ile Ala Leu Thr Lys Asn Thr Thr Ile Ala Ser Val Ile Gly
 165 170 175
 Val Gly Glu Ala Ser Leu Leu Met Lys Ser Thr Ile Glu Asn His Ala
 180 185 190
 Asn Met Leu Phe Val Val Phe Ala Ile Phe Ala Val Gly Phe Met Ile
 195 200 205
 Leu Thr Leu Pro Met Gly Leu Gly Leu Gly Lys Leu Ala Glu Lys Met
 210 215 220

THIS PAGE BLANK (USPTO)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

36/123

Pro Gly Pro Ser Phe
275

<210> 21

<211> 3598

<212> DNA

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>

<221> CDS

<222> (454)..(3222)

<400> 21

```

agcacggcca aacatgagag aaacttcaca ttttgaattt cccctttcct gcatatggaa 60
aaccgcggt gacacccctg ccatttgggc agtccccccc acctcaccat gtccacattt 120
tccataatgt ggctgtaac acccttgggc tcaaggettc cacgccccac cgggaccctc 180
atcagcaggt gaaacagacc ctctgcaat gctttgttaa aaagaaccgc cctttgtgcg 240
tatecttggt tcaattgtgc gcgcactgcc accagcttct ctcaggattg aacacggtcg 300
ggaaatectc cccggatacc ctgcacgecc cacctcccac accgacaccg gcggggaggg 360
ccgggcacgt tttcagctgc gggatgatgga agcggtcgcc ggtcccccg tgcataaac 420
gaaatgaaaa acattccaac aggaggtgtg gaa atg gcc gat caa gca aaa ctt 474

```

Met Ala Asp Gln Ala Lys Leu

1

5

```

ggt ggc aaa ccc aca gat gac acc aac ttc gcg atg atc cgt gat ggc 522
Gly Gly Lys Pro Thr Asp Asp Thr Asn Phe Ala Met Ile Arg Asp Gly

```

10

15

20

```

ggt gca tct tat ttg aac gac tcc gac ccg gag gag acc aag gag tgg 570
Val Ala Ser Tyr Leu Asn Asp Ser Asp Pro Glu Glu Thr Lys Glu Trp

```

25

30

35

```

atg gac tcc cta gac ggt cta ctg cag gat tcc tct ccg gag cgc gcc 618
Met Asp Ser Leu Asp Gly Leu Leu Gln Asp Ser Ser Pro Glu Arg Ala

```

40

45

50

55

```

cgt tac ctg atg ctg cgc ctg ctg gag cgg gca tcc gcc aag cgt gtc 666
Arg Tyr Leu Met Leu Arg Leu Leu Glu Arg Ala Ser Ala Lys Arg Val

```

60

65

70

```

cca ctg ccc ccg atg acg tcc acc gat tac gtc aac acc atc ccc aca 714
Pro Leu Pro Pro Met Thr Ser Thr Asp Tyr Val Asn Thr Ile Pro Thr

```

75

80

85

```

tcc atg gag ccc gat ttc ccg ggt gat gag gag atg gag aag cgc tac 762
Ser Met Glu Pro Asp Phe Pro Gly Asp Glu Glu Met Glu Lys Arg Tyr

```

90

95

100

```

cgc cgc tgg atg cgc tgg aac gcc gcc atc atg gtg cac cgt gcc cag 810
Arg Arg Trp Met Arg Trp Asn Ala Ala Ile Met Val His Arg Ala Gln

```

105

110

115

```

cgc ccg gga atc ggt gtg ggt ggg cac atc tcc acc tac gcc gcc gcc 858

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

37/123

Arg	Pro	Gly	Ile	Gly	Val	Gly	Gly	His	Ile	Ser	Thr	Tyr	Ala	Gly	Ala		
120					125					130					135		
gcc	cca	ctc	tac	gag	gtc	ggt	ttc	aac	cac	ttc	ttc	cgc	ggc	aag	gac	906	
Ala	Pro	Leu	Tyr	Glu	Val	Gly	Phe	Asn	His	Phe	Phe	Arg	Gly	Lys	Asp		
			140						145					150			
cac	ccg	ggt	ggc	ggt	gac	cag	gtc	ttc	ttc	cag	ggt	cac	gcc	tcc	ccg	954	
His	Pro	Gly	Gly	Gly	Asp	Gln	Val	Phe	Phe	Gln	Gly	His	Ala	Ser	Pro		
		155						160					165				
ggc	atg	tac	gcc	cgc	gcc	ttc	ctc	gag	ggc	cgt	ctc	acc	gag	agc	gat	1002	
Gly	Met	Tyr	Ala	Arg	Ala	Phe	Leu	Glu	Gly	Arg	Leu	Thr	Glu	Ser	Asp		
	170						175					180					
ctg	gac	agc	ttc	cgc	cag	gag	gtc	tcc	tac	gaa	ggt	ggt	ggc	atc	ccg	1050	
Leu	Asp	Ser	Phe	Arg	Gln	Glu	Val	Ser	Tyr	Glu	Gly	Gly	Gly	Ile	Pro		
	185					190				195							
tcc	tac	ccg	cac	ccg	cac	ggc	atg	ccg	gac	ttc	tgg	gag	ttc	ccg	acc	1098	
Ser	Tyr	Pro	His	Pro	His	Gly	Met	Pro	Asp	Phe	Trp	Glu	Phe	Pro	Thr		
200					205				210					215			
gtg	tcc	atg	ggc	ctc	ggg	ccc	atg	gat	gcc	atc	tac	cag	gcg	cgc	ttc	1146	
Val	Ser	Met	Gly	Leu	Gly	Pro	Met	Asp	Ala	Ile	Tyr	Gln	Ala	Arg	Phe		
			220					225				230					
aac	cgc	tac	ctg	cac	aac	cgt	ggc	atc	aag	gac	acc	tcg	gag	cag	cac	1194	
Asn	Arg	Tyr	Leu	His	Asn	Arg	Gly	Ile	Lys	Asp	Thr	Ser	Glu	Gln	His		
		235					240					245					
gtc	tgg	gca	ttc	ctc	ggt	gac	ggc	gag	atg	gat	gag	ccg	gag	tcc	cgt	1242	
Val	Trp	Ala	Phe	Leu	Gly	Asp	Gly	Glu	Met	Asp	Glu	Pro	Glu	Ser	Arg		
	250					255					260						
ggt	ctc	atc	cac	cag	gct	gcg	ctg	aac	aac	ctg	gac	aac	ctc	acc	ttc	1290	
Gly	Leu	Ile	His	Gln	Ala	Ala	Leu	Asn	Asn	Leu	Asp	Asn	Leu	Thr	Phe		
	265				270					275							
gtg	atc	aac	tgc	aac	ctg	cag	cgt	ctt	gat	ggc	ccg	gtc	cgc	ggt	aac	1338	
Val	Ile	Asn	Cys	Asn	Leu	Gln	Arg	Leu	Asp	Gly	Pro	Val	Arg	Gly	Asn		
280				285			290					295					
acc	aag	atc	atc	cag	gaa	ctc	gag	tcc	ttc	ttc	cgt	ggt	gcc	ggc	tgg	1386	
Thr	Lys	Ile	Ile	Gln	Glu	Leu	Glu	Ser	Phe	Phe	Arg	Gly	Ala	Gly	Trp		
			300					305				310					
tcc	gtc	atc	aag	gtc	atc	tgg	ggc	cgt	gag	tgg	gat	gaa	ctg	ctg	gag	1434	
Ser	Val	Ile	Lys	Val	Ile	Trp	Gly	Arg	Glu	Trp	Asp	Glu	Leu	Leu	Glu		
		315					320					325					
aag	gac	cag	gac	ggt	gct	ctt	gtc	gag	gtc	atg	aac	aac	acc	tcc	gac	1482	
Lys	Asp	Gln	Asp	Gly	Ala	Leu	Val	Glu	Val	Met	Asn	Asn	Thr	Ser	Asp		
	330					335					340						
ggt	gac	tac	cag	acc	ttc	aag	gcc	aat	gac	ggt	gcc	tac	gtc	cgt	gag	1530	
Gly	Asp	Tyr	Gln	Thr	Phe	Lys	Ala	Asn	Asp	Gly	Ala	Tyr	Val	Arg	Glu		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

38/123

345	350	355	
cac ttc ttc ggc cgt gac ccc cgc acc ctc aag ctc gtc gag gac atg			1578
His Phe Phe Gly Arg Asp Pro Arg Thr Leu Lys Leu Val Glu Asp Met			
360	365	370	375
acc gac gag gag atc tgg aag ctg ccc cgt ggt ggc cat gac tac cgt			1626
Thr Asp Glu Glu Ile Trp Lys Leu Pro Arg Gly Gly His Asp Tyr Arg			
380	385	390	
aag gtc tac gcc gcc tac aag cgt gcg ctg gag acc aag gac cgc ccg			1674
Lys Val Tyr Ala Ala Tyr Lys Arg Ala Leu Glu Thr Lys Asp Arg Pro			
395	400	405	
acc gtc att ctc gcc cat acc atc aag ggc tac ggc ctg ggc cac aac			1722
Thr Val Ile Leu Ala His Thr Ile Lys Gly Tyr Gly Leu Gly His Asn			
410	415	420	
ttc gag ggc cgc aac gcg acc cac cag atg aag aag ctg acc ctg gat			1770
Phe Glu Gly Arg Asn Ala Thr His Gln Met Lys Lys Leu Thr Leu Asp			
425	430	435	
gac ctg aag ctg ttc cgt gac aag cag ggt ctg ccc atc acc gat gag			1818
Asp Leu Lys Leu Phe Arg Asp Lys Gln Gly Leu Pro Ile Thr Asp Glu			
440	445	450	455
gag ctg gag aag gat ccc tac ctg cct ccg tac tac cac ccg ggt gag			1866
Glu Leu Glu Lys Asp Pro Tyr Leu Pro Pro Tyr Tyr His Pro Gly Glu			
460	465	470	
gac gca ccg gag atc aag tac atg aag gag cgt cgc cag gcg ctc ggt			1914
Asp Ala Pro Glu Ile Lys Tyr Met Lys Glu Arg Arg Gln Ala Leu Gly			
475	480	485	
ggt ttc ctg ccg gag cgc cgt gag aag tac gag cca ctg cag gtt ccc			1962
Gly Phe Leu Pro Glu Arg Arg Glu Lys Tyr Glu Pro Leu Gln Val Pro			
490	495	500	
ccg ctg gac aag ctg cgg tcc gtg cgc aag ggt tcc ggc aag cag cag			2010
Pro Leu Asp Lys Leu Arg Ser Val Arg Lys Gly Ser Gly Lys Gln Gln			
505	510	515	
gtg gcc acc acc atg gcc acg gtg cgt acc ttc aag gaa ctc atg cgg			2058
Val Ala Thr Thr Met Ala Thr Val Arg Thr Phe Lys Glu Leu Met Arg			
520	525	530	535
gac aag aac ctg gcc gac cgc ttg gtc ccg atc atc ccg gat gag gcc			2106
Asp Lys Asn Leu Ala Asp Arg Leu Val Pro Ile Ile Pro Asp Glu Ala			
540	545	550	
cgc acc ttc ggc ctg gac tcc tgg ttc ccg acc ctg aaa atc tac aac			2154
Arg Thr Phe Gly Leu Asp Ser Trp Phe Pro Thr Leu Lys Ile Tyr Asn			
555	560	565	
ccg cac ggt cag aac tac gtg ccg gtc gac cat gac ctc atg ctg tcc			2202
Pro His Gly Gln Asn Tyr Val Pro Val Asp His Asp Leu Met Leu Ser			
570	575	580	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

39/123

tac cgt gag gcc aag gac ggc cag atc ctg cat gag ggc atc aac gag	2250
Tyr Arg Glu Ala Lys Asp Gly Gln Ile Leu His Glu Gly Ile Asn Glu	
585 590 595	
gcc ggt tcc gtg gca tcg ttt atc gcc gcc gga acc tcc tac gcc acc	2298
Ala Gly Ser Val Ala Ser Phe Ile Ala Ala Gly Thr Ser Tyr Ala Thr	
600 605 610 615	
cat ggc gag gcc atg atc ccg ctg tac atc ttc tac tcg atg ttc ggc	2346
His Gly Glu Ala Met Ile Pro Leu Tyr Ile Phe Tyr Ser Met Phe Gly	
620 625 630	
ttc cag cgc acc ggt gac ggc atc tgg gcc gca gcc gac cag atg acg	2394
Phe Gln Arg Thr Gly Asp Gly Ile Trp Ala Ala Ala Asp Gln Met Thr	
635 640 645	
cgt ggt ttc ctc ctg ggc gcc acc gcc ggt cgc acc acc ctg acc ggt	2442
Arg Gly Phe Leu Leu Gly Ala Thr Ala Gly Arg Thr Thr Leu Thr Gly	
650 655 660	
gag ggc ctc cag cac atg gat ggc cac tcc ccg atc ctg gcc tcc acc	2490
Glu Gly Leu Gln His Met Asp Gly His Ser Pro Ile Leu Ala Ser Thr	
665 670 675	
aac ccc ggt gtg gag acc tat gac ccg gcg ttc tcc tac gag atc gcg	2538
Asn Pro Gly Val Glu Thr Tyr Asp Pro Ala Phe Ser Tyr Glu Ile Ala	
680 685 690 695	
cac ctg gtc cac cgc ggc atc gac cgc atg tac gga ccg ggc aag ggt	2586
His Leu Val His Arg Gly Ile Asp Arg Met Tyr Gly Pro Gly Lys Gly	
700 705 710	
gag aat gtc atc tac tac ctc acc atc tac aac gag cca acc ccg cag	2634
Glu Asn Val Ile Tyr Tyr Leu Thr Ile Tyr Asn Glu Pro Thr Pro Gln	
715 720 725	
ccg gct gag cct gag gat ctg gac gtc gag ggc ctg cac aag ggc atc	2682
Pro Ala Glu Pro Glu Asp Leu Asp Val Glu Gly Leu His Lys Gly Ile	
730 735 740	
tac ctc tac gac aag gcc gcc gag ggt gag ggc cat gag gcc tcg atc	2730
Tyr Leu Tyr Asp Lys Ala Ala Glu Gly Glu Gly His Glu Ala Ser Ile	
745 750 755	
ctg gcc tcc ggc atc ggc atg cag tgg gca ctg cgc gcc cgt gac atc	2778
Leu Ala Ser Gly Ile Gly Met Gln Trp Ala Leu Arg Ala Arg Asp Ile	
760 765 770 775	
ctc gcc gag gat tac ggc atc cgt gcc aac atc ttc tcc gcc acc tcg	2826
Leu Ala Glu Asp Tyr Gly Ile Arg Ala Asn Ile Phe Ser Ala Thr Ser	
780 785 790	
tgg gtg gag ctg gcc cgc gac ggt gcc cgc cgt aac ctg gag gcg ctg	2874
Trp Val Glu Leu Ala Arg Asp Gly Ala Arg Arg Asn Leu Glu Ala Leu	
795 800 805	
cgc aac ccg ggt gcg gat gtc ggt gag gca ttc gtg acc acc cag ctg	2922

THIS PAGE BLANK (USPTO)

40/123

```

Arg Asn Pro Gly Ala Asp Val Gly Glu Ala Phe Val Thr Thr Gln Leu
      810                      815                      820
aag aag ggt tcc ggc ccc tac gtc gcg gtg tcc gac ttc gcg acc gac 2970
Lys Lys Gly Ser Gly Pro Tyr Val Ala Val Ser Asp Phe Ala Thr Asp
      825                      830                      835
ctg ccg aac cag atc cgc gag tgg gtt ccc ggt gac tac atc gtc ctc 3018
Leu Pro Asn Gln Ile Arg Glu Trp Val Pro Gly Asp Tyr Ile Val Leu
      840                      845                      850                      855
ggt gcc gac ggc ttc ggt ttc tcc gat acc cgt ccg gca gcc cgt cgt 3066
Gly Ala Asp Gly Phe Gly Phe Ser Asp Thr Arg Pro Ala Ala Arg Arg
      860                      865                      870
tac ttc aac atc gac gcc gag tcc atc gtc gtg gcg gtc ctg cgc ggc 3114
Tyr Phe Asn Ile Asp Ala Glu Ser Ile Val Val Ala Val Leu Arg Gly
      875                      880                      885
ctg gtc cgc gag ggt gtc atc gat gcc tcc gtg gcg gcg cac gcg gct 3162
Leu Val Arg Glu Gly Val Ile Asp Ala Ser Val Ala Ala His Ala Ala
      890                      895                      900
gag aag tac aag ctg tcc gac ccg acg gca cca cag gtc gat ccg gac 3210
Glu Lys Tyr Lys Leu Ser Asp Pro Thr Ala Pro Gln Val Asp Pro Asp
      905                      910                      915
gca ccg atc gag tagacctgct tgtcgacgaa aaacaccccc gccccctcac 3262
Ala Pro Ile Glu
920
atgatgaggg gggcgggggt gtgctcgttt acggcgggta caggggggta tcagcccagc 3322
atgccttat cggagagcgt cgccgcttg atcttggega attcctgcag cagatcccgc 3382
acggtgagct tctgcttcac ctctgcgtg gctcataga cgatccgtcc ctgctgcac 3442
atgatgaggc ggttaccag gcggatagcc tgttccatgt tgtgggtgac catgagggtg 3502
gtcagtttgc cgtcctcgac gatcttctcg gtcagggtgg tgaccagttc ggtcgtctgg 3562
gggtccaggg cggcgggtgtg ttcgtcgaga agcatg 3598

```

<210> 22

<211> 923

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 22

```

Met Ala Asp Gln Ala Lys Leu Gly Gly Lys Pro Thr Asp Asp Thr Asn
  1                      5                      10                      15
Phe Ala Met Ile Arg Asp Gly Val Ala Ser Tyr Leu Asn Asp Ser Asp
      20                      25                      30
Pro Glu Glu Thr Lys Glu Trp Met Asp Ser Leu Asp Gly Leu Leu Gln
      35                      40                      45
Asp Ser Ser Pro Glu Arg Ala Arg Tyr Leu Met Leu Arg Leu Leu Glu

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

41/123

50		55		60	
Arg Ala Ser Ala Lys	Arg Val Pro Leu Pro Pro	Met Thr Ser Thr Asp			
65	70	75	80		
Tyr Val Asn Thr Ile	Pro Thr Ser Met Glu Pro Asp	Phe Pro Gly Asp			
	85	90	95		
Glu Glu Met Glu Lys Arg	Tyr Arg Arg Trp Met Arg	Trp Asn Ala Ala			
	100	105	110		
Ile Met Val His Arg Ala	Gln Arg Pro Gly Ile Gly	Val Gly Gly His			
	115	120	125		
Ile Ser Thr Tyr Ala Gly	Ala Ala Pro Leu Tyr Glu	Val Gly Phe Asn			
	130	135	140		
His Phe Phe Arg Gly Lys	Asp His Pro Gly Gly Gly	Asp Gln Val Phe			
	145	150	155	160	
Phe Gln Gly His Ala Ser	Pro Gly Met Tyr Ala Arg	Ala Phe Leu Glu			
	165	170	175		
Gly Arg Leu Thr Glu Ser	Asp Leu Asp Ser Phe Arg	Gln Glu Val Ser			
	180	185	190		
Tyr Glu Gly Gly Gly Ile	Pro Ser Tyr Pro His Pro	His Gly Met Pro			
	195	200	205		
Asp Phe Trp Glu Phe Pro	Thr Val Ser Met Gly Leu	Gly Pro Met Asp			
	210	215	220		
Ala Ile Tyr Gln Ala Arg	Phe Asn Arg Tyr Leu His	Asn Arg Gly Ile			
	225	230	235	240	
Lys Asp Thr Ser Glu Gln	His Val Trp Ala Phe Leu	Gly Asp Gly Glu			
	245	250	255		
Met Asp Glu Pro Glu Ser	Arg Gly Leu Ile His Gln	Ala Ala Leu Asn			
	260	265	270		
Asn Leu Asp Asn Leu Thr	Phe Val Ile Asn Cys Asn	Leu Gln Arg Leu			
	275	280	285		
Asp Gly Pro Val Arg Gly	Asn Thr Lys Ile Ile Gln	Glu Leu Glu Ser			
	290	295	300		
Phe Phe Arg Gly Ala Gly	Trp Ser Val Ile Lys Val	Ile Trp Gly Arg			
	305	310	315	320	
Glu Trp Asp Glu Leu Leu	Glu Lys Asp Gln Asp Gly	Ala Leu Val Glu			
	325	330	335		
Val Met Asn Asn Thr Ser	Asp Gly Asp Tyr Gln Thr	Phe Lys Ala Asn			
	340	345	350		
Asp Gly Ala Tyr Val Arg	Glu His Phe Phe Gly Arg	Asp Pro Arg Thr			
	355	360	365		
Leu Lys Leu Val Glu Asp	Met Thr Asp Glu Glu Ile	Trp Lys Leu Pro			
	370	375	380		
Arg Gly Gly His Asp Tyr	Arg Lys Val Tyr Ala Ala	Tyr Lys Arg Ala			
	385	390	395	400	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Leu	Glu	Thr	Lys	Asp	Arg	Pro	Thr	Val	Ile	Leu	Ala	His	Thr	Ile	Lys	
				405					410					415		
Gly	Tyr	Gly	Leu	Gly	His	Asn	Phe	Glu	Gly	Arg	Asn	Ala	Thr	His	Gln	
				420					425					430		
Met	Lys	Lys	Leu	Thr	Leu	Asp	Asp	Leu	Lys	Leu	Phe	Arg	Asp	Lys	Gln	
				435					440					445		
Gly	Leu	Pro	Ile	Thr	Asp	Glu	Glu	Leu	Glu	Lys	Asp	Pro	Tyr	Leu	Pro	
				450					455					460		
Pro	Tyr	Tyr	His	Pro	Gly	Glu	Asp	Ala	Pro	Glu	Ile	Lys	Tyr	Met	Lys	
				465					470					475		
Glu	Arg	Arg	Gln	Ala	Leu	Gly	Gly	Phe	Leu	Pro	Glu	Arg	Arg	Glu	Lys	
				485					490					495		
Tyr	Glu	Pro	Leu	Gln	Val	Pro	Pro	Leu	Asp	Lys	Leu	Arg	Ser	Val	Arg	
				500					505					510		
Lys	Gly	Ser	Gly	Lys	Gln	Gln	Val	Ala	Thr	Thr	Met	Ala	Thr	Val	Arg	
				515					520					525		
Thr	Phe	Lys	Glu	Leu	Met	Arg	Asp	Lys	Asn	Leu	Ala	Asp	Arg	Leu	Val	
				530					535					540		
Pro	Ile	Ile	Pro	Asp	Glu	Ala	Arg	Thr	Phe	Gly	Leu	Asp	Ser	Trp	Phe	
				545					550					555		
Pro	Thr	Leu	Lys	Ile	Tyr	Asn	Pro	His	Gly	Gln	Asn	Tyr	Val	Pro	Val	
				565					570					575		
Asp	His	Asp	Leu	Met	Leu	Ser	Tyr	Arg	Glu	Ala	Lys	Asp	Gly	Gln	Ile	
				580					585					590		
Leu	His	Glu	Gly	Ile	Asn	Glu	Ala	Gly	Ser	Val	Ala	Ser	Phe	Ile	Ala	
				595					600					605		
Ala	Gly	Thr	Ser	Tyr	Ala	Thr	His	Gly	Glu	Ala	Met	Ile	Pro	Leu	Tyr	
				610					615					620		
Ile	Phe	Tyr	Ser	Met	Phe	Gly	Phe	Gln	Arg	Thr	Gly	Asp	Gly	Ile	Trp	
				625					630					635		
Ala	Ala	Ala	Asp	Gln	Met	Thr	Arg	Gly	Phe	Leu	Leu	Gly	Ala	Thr	Ala	
				645					650					655		
Gly	Arg	Thr	Thr	Leu	Thr	Gly	Glu	Gly	Leu	Gln	His	Met	Asp	Gly	His	
				660					665					670		
Ser	Pro	Ile	Leu	Ala	Ser	Thr	Asn	Pro	Gly	Val	Glu	Thr	Tyr	Asp	Pro	
				675					680					685		
Ala	Phe	Ser	Tyr	Glu	Ile	Ala	His	Leu	Val	His	Arg	Gly	Ile	Asp	Arg	
				690					695					700		
Met	Tyr	Gly	Pro	Gly	Lys	Gly	Glu	Asn	Val	Ile	Tyr	Tyr	Leu	Thr	Ile	
				705					710					715		
Tyr	Asn	Glu	Pro	Thr	Pro	Gln	Pro	Ala	Glu	Pro	Glu	Asp	Leu	Asp	Val	
				725					730					735		
Glu	Gly	Leu	His	Lys	Gly	Ile	Tyr	Leu	Tyr	Asp	Lys	Ala	Ala	Glu	Gly	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

43/123

740					745					750					
Glu	Gly	His	Glu	Ala	Ser	Ile	Leu	Ala	Ser	Gly	Ile	Gly	Met	Gln	Trp
755					760					765					
Ala	Leu	Arg	Ala	Arg	Asp	Ile	Leu	Ala	Glu	Asp	Tyr	Gly	Ile	Arg	Ala
770					775					780					
Asn	Ile	Phe	Ser	Ala	Thr	Ser	Trp	Val	Glu	Leu	Ala	Arg	Asp	Gly	Ala
785					790					795					
Arg	Arg	Asn	Leu	Glu	Ala	Leu	Arg	Asn	Pro	Gly	Ala	Asp	Val	Gly	Glu
805					810					815					
Ala	Phe	Val	Thr	Thr	Gln	Leu	Lys	Lys	Gly	Ser	Gly	Pro	Tyr	Val	Ala
820					825					830					
Val	Ser	Asp	Phe	Ala	Thr	Asp	Leu	Pro	Asn	Gln	Ile	Arg	Glu	Trp	Val
835					840					845					
Pro	Gly	Asp	Tyr	Ile	Val	Leu	Gly	Ala	Asp	Gly	Phe	Gly	Phe	Ser	Asp
850					855					860					
Thr	Arg	Pro	Ala	Ala	Arg	Arg	Tyr	Phe	Asn	Ile	Asp	Ala	Glu	Ser	Ile
865					870					875					
Val	Val	Ala	Val	Leu	Arg	Gly	Leu	Val	Arg	Glu	Gly	Val	Ile	Asp	Ala
885					890					895					
Ser	Val	Ala	Ala	His	Ala	Ala	Glu	Lys	Tyr	Lys	Leu	Ser	Asp	Pro	Thr
900					905					910					
Ala	Pro	Gln	Val	Asp	Pro	Asp	Ala	Pro	Ile	Glu					
915					920										

<210> 23

<211> 4013

<212> DNA

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>

<221> CDS

<222> (319)..(3735)

<400> 23

```

gtcctttttg caaattctgc aaagtgggta gaggtcagat gtcagcaggt cgggtccgatt 60
tctgtaggaa agtggagccg ttgggggcaa cattaacctt cccctggga tgtagctaaa 120
cggcaatggg ggtctcgggc ggggggcatt cttttcacgg caaggtggtg aaattccgca 180
ggtcactccc cggccggcgg tagagaacgg agcgaaaacg gaaagcaata cgtggttttc 240
cggactggcc gttacgatgt tctgaagagt gactgccatc acccaacagg ctggtcctcg 300
tcgaaaggaa caaaaact gtg gtt aca aca aca ccc tcc acg ctg ccg gcg 351
                Val Val Thr Thr Thr Pro Ser Thr Leu Pro Ala
                    1                5                10
ttc aaa aag atc ctg gtg gcc aac cga ggt gaa atc gcg gtg cga gca 399

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Phe	Lys	Lys	Ile	Leu	Val	Ala	Asn	Arg	Gly	Glu	Ile	Ala	Val	Arg	Ala		
			15					20					25				
ttc	cgc	gcc	gcc	tac	gag	acc	ggg	gcc	gca	acc	gtg	gcc	atc	tac	ccc	447	
Phe	Arg	Ala	Ala	Tyr	Glu	Thr	Gly	Ala	Ala	Thr	Val	Ala	Ile	Tyr	Pro		
		30					35					40					
cgg	gag	gac	cgt	ggc	tcc	ttc	cac	cgc	tcc	ttc	gcc	tcc	gag	gcg	gtg	495	
Arg	Glu	Asp	Arg	Gly	Ser	Phe	His	Arg	Ser	Phe	Ala	Ser	Glu	Ala	Val		
	45					50					55						
agg	atc	gga	acc	gag	ggc	tca	ccc	gtc	aag	gcg	tac	ctc	gat	att	gat	543	
Arg	Ile	Gly	Thr	Glu	Gly	Ser	Pro	Val	Lys	Ala	Tyr	Leu	Asp	Ile	Asp		
60					65					70					75		
gag	atc	atc	aac	gcc	gcc	aag	aag	gtg	aaa	gcg	gac	gcg	gtc	tac	ccg	591	
Glu	Ile	Ile	Asn	Ala	Ala	Lys	Lys	Val	Lys	Ala	Asp	Ala	Val	Tyr	Pro		
			80					85					90				
ggg	tat	ggt	ttc	ctt	tcg	gaa	aat	gcc	cag	ctc	gcg	cgt	gaa	tgc	gcg	639	
Gly	Tyr	Gly	Phe	Leu	Ser	Glu	Asn	Ala	Gln	Leu	Ala	Arg	Glu	Cys	Ala		
			95				100					105					
gag	aac	ggc	att	acc	ttc	atc	ggt	ccc	acc	ccg	gag	gtg	ctc	gac	ctc	687	
Glu	Asn	Gly	Ile	Thr	Phe	Ile	Gly	Pro	Thr	Pro	Glu	Val	Leu	Asp	Leu		
	110						115					120					
acg	ggc	gac	aag	tcc	aag	gct	gtg	tcc	gcc	gcg	aag	aag	gcc	ggg	ctg	735	
Thr	Gly	Asp	Lys	Ser	Lys	Ala	Val	Ser	Ala	Ala	Lys	Lys	Ala	Gly	Leu		
	125					130					135						
ccg	gtg	ctg	gcg	gaa	tcc	acc	ccc	agc	acc	gac	atc	gat	gag	atc	gtc	783	
Pro	Val	Leu	Ala	Glu	Ser	Thr	Pro	Ser	Thr	Asp	Ile	Asp	Glu	Ile	Val		
140					145					150				155			
aag	agt	gcc	gag	ggg	cag	acc	tac	ccg	atc	ttc	gtc	aag	gcc	gtc	gca	831	
Lys	Ser	Ala	Glu	Gly	Gln	Thr	Tyr	Pro	Ile	Phe	Val	Lys	Ala	Val	Ala		
			160				165					170					
ggt	ggt	ggc	ggg	cgt	ggt	atg	cgg	ttc	gtc	gag	aag	ccc	gag	gac	ctg	879	
Gly	Gly	Gly	Gly	Arg	Gly	Met	Arg	Phe	Val	Glu	Lys	Pro	Glu	Asp	Leu		
		175					180					185					
cgt	gag	ctg	gcc	agg	gag	gcc	tcc	cgc	gag	gcg	gag	gcc	gct	ttc	ggt	927	
Arg	Glu	Leu	Ala	Arg	Glu	Ala	Ser	Arg	Glu	Ala	Glu	Ala	Ala	Phe	Gly		
		190					195					200					
gac	gga	tcc	gtc	tac	gtc	gaa	cgg	gcc	gtg	atc	aaa	ccc	cag	cac	atc	975	
Asp	Gly	Ser	Val	Tyr	Val	Glu	Arg	Ala	Val	Ile	Lys	Pro	Gln	His	Ile		
	205					210					215						
gag	gtg	cag	atc	ctc	ggt	gat	cac	acc	ggc	gat	gtc	atc	cac	ctg	tat	1023	
Glu	Val	Gln	Ile	Leu	Gly	Asp	His	Thr	Gly	Asp	Val	Ile	His	Leu	Tyr		
220					225					230				235			
gaa	cgc	gac	tgt	tcc	ctg	cag	cgc	cgc	cac	cag	aag	gtc	gtg	gag	atc	1071	
Glu	Arg	Asp	Cys	Ser	Leu	Gln	Arg	Arg	His	Gln	Lys	Val	Val	Glu	Ile		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

45/123

	240		245		250	
gca cct gcc cag cac ctc gac ccg gag ctg cgc gac cgc atc tgt gcc						1119
Ala Pro Ala Gln His Leu Asp Pro Glu Leu Arg Asp Arg Ile Cys Ala						
	255		260		265	
gat gcc gtg aag ttc tgc aaa tcc atc gga tac cag ggc gcc ggc acc						1167
Asp Ala Val Lys Phe Cys Lys Ser Ile Gly Tyr Gln Gly Ala Gly Thr						
	270		275		280	
gtg gag ttc ctc gtc gac gag gcg ggc aac cac gtc ttc att gag atg						1215
Val Glu Phe Leu Val Asp Glu Ala Gly Asn His Val Phe Ile Glu Met						
	285		290		295	
aac ccc cgc atc cag gtg gaa cac acc gtg acc gag gag gtc acc tcc						1263
Asn Pro Arg Ile Gln Val Glu His Thr Val Thr Glu Glu Val Thr Ser						
300		305		310		315
gtc gac ctg gtc aag gcg cag atg cac ctg gcc gcc ggt gcc acc ctg						1311
Val Asp Leu Val Lys Ala Gln Met His Leu Ala Ala Gly Ala Thr Leu						
	320		325		330	
aag gaa ctg ggc ctg acc cag gac aag atc acc acc cac ggt gcc gcc						1359
Lys Glu Leu Gly Leu Thr Gln Asp Lys Ile Thr Thr His Gly Ala Ala						
	335		340		345	
ctg cag tgc cgc atc acc acg gag gac ccg tcc aac aac ttc cgg ccc						1407
Leu Gln Cys Arg Ile Thr Thr Glu Asp Pro Ser Asn Asn Phe Arg Pro						
	350		355		360	
gac acc ggt gtg atc acc gcc tac cgc tcc ccg ggt ggt gcg ggt gtg						1455
Asp Thr Gly Val Ile Thr Ala Tyr Arg Ser Pro Gly Gly Ala Gly Val						
	365		370		375	
cgt ctc gac ggc gca gcc cag ctc ggc ggc gag atc acc gca cat ttc						1503
Arg Leu Asp Gly Ala Ala Gln Leu Gly Gly Glu Ile Thr Ala His Phe						
380		385		390		395
gat tcc atg ctg gtc aag atg acc tgc cgc ggt tcc gat ttc gag acc						1551
Asp Ser Met Leu Val Lys Met Thr Cys Arg Gly Ser Asp Phe Glu Thr						
	400		405		410	
gcc gtg tcc cga gcc cag cgc gcc ctg gcg gag ttc aac gtc tcc ggc						1599
Ala Val Ser Arg Ala Gln Arg Ala Leu Ala Glu Phe Asn Val Ser Gly						
	415		420		425	
gtg gcc acc aac atc ggc ttc ctg cgt gcg ctg ctg cgc gag gaa gac						1647
Val Ala Thr Asn Ile Gly Phe Leu Arg Ala Leu Leu Arg Glu Glu Asp						
	430		435		440	
ttc acc aag agg cgc atc gac acc ggc ttc atc ggc tcc cac cag cac						1695
Phe Thr Lys Arg Arg Ile Asp Thr Gly Phe Ile Gly Ser His Gln His						
	445		450		455	
ctg ctc cag gcc cca ccg gcc gac gat gag cag ggg cgg atc ctg gaa						1743
Leu Leu Gln Ala Pro Pro Ala Asp Asp Glu Gln Gly Arg Ile Leu Glu						
460		465		470		475

THIS PAGE BLANK (USPTO)

tac ctg gcg gat gtc acc gtg aac aaa ccc cac ggt gaa cgc ccc gag	1791
Tyr Leu Ala Asp Val Thr Val Asn Lys Pro His Gly Glu Arg Pro Glu	
480 485 490	
aca gcc cgt ccg ata gag aag ctg ccc gag gtg gag aac atc ccg ctg	1839
Thr Ala Arg Pro Ile Glu Lys Leu Pro Glu Val Glu Asn Ile Pro Leu	
495 500 505	
cca cgc ggc tcc cgc gac cgc ctg aag cag ctc ggc ccg gag ggt ttc	1887
Pro Arg Gly Ser Arg Asp Arg Leu Lys Gln Leu Gly Pro Glu Gly Phe	
510 515 520	
gcc cgc gat ctg cgc gaa cag gat gcc ctg gcc gtc acc gac acc acc	1935
Ala Arg Asp Leu Arg Glu Gln Asp Ala Leu Ala Val Thr Asp Thr Thr	
525 530 535	
ttc cgc gat gcc cac cag tcc ctc ctg gcc acc cgc gtg cgc tcc ttc	1983
Phe Arg Asp Ala His Gln Ser Leu Leu Ala Thr Arg Val Arg Ser Phe	
540 545 550 555	
gcg ctg acc ccg gcg gcg cgc gcc gtc gca aag ctc acc ccc gag ctg	2031
Ala Leu Thr Pro Ala Ala Arg Ala Val Ala Lys Leu Thr Pro Glu Leu	
560 565 570	
ctg tcg gtg gag gcc tgg ggc ggt gcc acc tac gac gtg gcc atg cgc	2079
Leu Ser Val Glu Ala Trp Gly Gly Ala Thr Tyr Asp Val Ala Met Arg	
575 580 585	
ttc ctc ttc gag gat ccg tgg gca cgc ctg gat gag ctg cgt gag gcg	2127
Phe Leu Phe Glu Asp Pro Trp Ala Arg Leu Asp Glu Leu Arg Glu Ala	
590 595 600	
atg ccg aat gtg aac atc cag atg ctg ctg cgt ggt cgc aac acc gtc	2175
Met Pro Asn Val Asn Ile Gln Met Leu Leu Arg Gly Arg Asn Thr Val	
605 610 615	
ggg tac acc ccg tac ccc gat tcg gtg tgc cgc gcg ttt gtg cag gag	2223
Gly Tyr Thr Pro Tyr Pro Asp Ser Val Cys Arg Ala Phe Val Gln Glu	
620 625 630 635	
gcc gcc aag tcc ggt gtg gac atc ttc cgc atc ttc gac gcg ctc aac	2271
Ala Ala Lys Ser Gly Val Asp Ile Phe Arg Ile Phe Asp Ala Leu Asn	
640 645 650	
gac atc tcc cag atg cgc ccg gcc atc gac gcc gtc ctg gag acc ggc	2319
Asp Ile Ser Gln Met Arg Pro Ala Ile Asp Ala Val Leu Glu Thr Gly	
655 660 665	
acc agt gtt gcc gag gtc gcc atg gcg tac tcc ggt gac ctg tcc aat	2367
Thr Ser Val Ala Glu Val Ala Met Ala Tyr Ser Gly Asp Leu Ser Asn	
670 675 680	
ccg ggg gag aag ctc tac acc ctg gac tac tac ctg aac ctg gcc gag	2415
Pro Gly Glu Lys Leu Tyr Thr Leu Asp Tyr Tyr Leu Asn Leu Ala Glu	
685 690 695	
cag atc gtc gac tcc ggt gca cac atc ctg gcc atc aag gac atg gcc	2463

THIS PAGE BLANK (USPTO)

47/123

Gln Ile Val Asp Ser Gly Ala His Ile Leu Ala Ile Lys Asp Met Ala	
700 705 710 715	
ggc ctg ctg cgc cgc gcc gcg gcg ccc aaa ctg gtc acc gcc ctg cgc	2511
Gly Leu Leu Arg Arg Ala Ala Ala Pro Lys Leu Val Thr Ala Leu Arg	
720 725 730	
cgt gaa ttc gac ctg ccc gtg cat gtc cac acc cac gac acc gcc ggc	2559
Arg Glu Phe Asp Leu Pro Val His Val His Thr His Asp Thr Ala Gly	
735 740 745	
ggt cag ctg gcc acc tac ctg gcc gcc gcc aac gcc ggg gcc gat gcc	2607
Gly Gln Leu Ala Thr Tyr Leu Ala Ala Ala Asn Ala Gly Ala Asp Ala	
750 755 760	
gtc gac gcc gcc tcc gca ccc ctg tcc ggt acc acc tcc cag ccg tcg	2655
Val Asp Ala Ala Ser Ala Pro Leu Ser Gly Thr Thr Ser Gln Pro Ser	
765 770 775	
atg tcc gct ctg gtt gcc gcg ttt gcg cac acc cga cgc gac acc ggc	2703
Met Ser Ala Leu Val Ala Ala Phe Ala His Thr Arg Arg Asp Thr Gly	
780 785 790 795	
ctc aac ctg cag gcc gtc tcc gac ctg gaa ccg tac tgg gag gcg gtc	2751
Leu Asn Leu Gln Ala Val Ser Asp Leu Glu Pro Tyr Trp Glu Ala Val	
800 805 810	
cgc gga ctg tac ctg ccg ttt gaa tcc ggc acc ccg ggc ccg acc gga	2799
Arg Gly Leu Tyr Leu Pro Phe Glu Ser Gly Thr Pro Gly Pro Thr Gly	
815 820 825	
cgc gtt tac cgc cac gag atc ccc ggc ggt cag ctg tcc aac ctg cgt	2847
Arg Val Tyr Arg His Glu Ile Pro Gly Gly Gln Leu Ser Asn Leu Arg	
830 835 840	
gcc cag gcc gtt gca ctg ggt ctg gcc gac cgc ttc gag ctc atc gag	2895
Ala Gln Ala Val Ala Leu Gly Leu Ala Asp Arg Phe Glu Leu Ile Glu	
845 850 855	
gac tac tac gcg gcc gtc aac gag atg ctg ggt cgt ccg acc aag gtc	2943
Asp Tyr Tyr Ala Ala Val Asn Glu Met Leu Gly Arg Pro Thr Lys Val	
860 865 870 875	
acc ccg tcc tcc aag gtt gtc ggt gac ctc gca ctg cac ctc gtc ggt	2991
Thr Pro Ser Ser Lys Val Val Gly Asp Leu Ala Leu His Leu Val Gly	
880 885 890	
gcc ggt gtg agc ccg gag gat ttc gcc gcc gat ccg cag aag tac gac	3039
Ala Gly Val Ser Pro Glu Asp Phe Ala Ala Asp Pro Gln Lys Tyr Asp	
895 900 905	
atc ccc gat tcg gtc atc gcc ttc ctc cgc ggc gaa ctg ggt acc cct	3087
Ile Pro Asp Ser Val Ile Ala Phe Leu Arg Gly Glu Leu Gly Thr Pro	
910 915 920	
ccc ggt ggc tgg ccc gaa ccg ctg cgc acc cgt gca ctc gag ggt cgc	3135
Pro Gly Gly Trp Pro Glu Pro Leu Arg Thr Arg Ala Leu Glu Gly Arg	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

48/123

925	930	935	
tcc cag ggt aag gcc ccg ctg gcg gag atc ccc gcc gag gag cag gcc			3183
Ser Gln Gly Lys Ala Pro Leu Ala Glu Ile Pro Ala Glu Glu Gln Ala			
940	945	950	955
cac ctg gat tcc gat gat tcc gcg gag cgt cgc gcc acc ctc aac cgc			3231
His Leu Asp Ser Asp Asp Ser Ala Glu Arg Arg Gly Thr Leu Asn Arg			
960	965	970	
ctg ctg ttc ccg aag ccg acc gag gag ttc ctt gag cac cgt cgc cgc			3279
Leu Leu Phe Pro Lys Pro Thr Glu Glu Phe Leu Glu His Arg Arg Arg			
975	980	985	
ttc gcc aac acc tcc gcc ctg gat gac cgc gag ttc ttc tac gcc ttg			3327
Phe Gly Asn Thr Ser Ala Leu Asp Asp Arg Glu Phe Phe Tyr Gly Leu			
990	995	1000	
aag gag gga cgt gag gag ctg atc cga ctg acc ggt gtg tcc acc ccg			3375
Lys Glu Gly Arg Glu Glu Leu Ile Arg Leu Thr Gly Val Ser Thr Pro			
1005	1010	1015	
atg gtg gtc cgc ctg gat gcg gtg tcc gaa ccg gat gac aaa gcc atg			3423
Met Val Val Arg Leu Asp Ala Val Ser Glu Pro Asp Asp Lys Gly Met			
1020	1025	1030	1035
cgc aac gtg gtg gtc aac gtc aac gcc cag atc cgc ccg atc aag gtg			3471
Arg Asn Val Val Val Asn Val Asn Gly Gln Ile Arg Pro Ile Lys Val			
1040	1045	1050	
cgc gac cgt tcc gtg gag tcc gtc acc gcc acc gcg gag aag gcc gat			3519
Arg Asp Arg Ser Val Glu Ser Val Thr Ala Thr Ala Glu Lys Ala Asp			
1055	1060	1065	
gcc acc aac aag gcc cat gtc gcc gca cca ttc gcc ggt gtg gtc acc			3567
Ala Thr Asn Lys Gly His Val Ala Ala Pro Phe Ala Gly Val Val Thr			
1070	1075	1080	
gtg acc gtc gcc gag ggt gat gag atc aag gct gcc gac gcc gtg gcc			3615
Val Thr Val Ala Glu Gly Asp Glu Ile Lys Ala Gly Asp Ala Val Ala			
1085	1090	1095	
atc att gag gcc atg aag atg gag gcc acc atc acc gcg cct gtc gac			3663
Ile Ile Glu Ala Met Lys Met Glu Ala Thr Ile Thr Ala Pro Val Asp			
1100	1105	1110	1115
ggt gtc atc gac cgc gtc gtg gtg ccc gcc gcc acc aag gtc gag gcc			3711
Gly Val Ile Asp Arg Val Val Val Pro Ala Ala Thr Lys Val Glu Gly			
1120	1125	1130	
ggc gac ctc atc gtg gtc gtg tcc tagcgactga gagccacaac ccgtcccg			3765
Gly Asp Leu Ile Val Val Val Ser			
1135			
tgccttggtta tcaacctccc cctgatgatg ttctcagggg gaggetctac gtacctcacc			3825
gtgacgggtgc atgtatatcg tctgtctgga gagaatgctc caggtaggaa cgccaaccac			3885
cccactccgt gatgtccgt gctgatccca ggcaggccgg ttggaaagaa aaaccagtga			3945

THIS PAGE BLANK (USPTO)

49/123

tggaacggcc atcggacagc gagacggaac caagcgatcat cggctccggt agagcgggtga 4005
ggagcctg 4013

<210> 24

<211> 1139

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 24

Val	Val	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Thr	Leu	Pro	Ala	Phe	Lys	Lys	Ile	Leu
1				5				10						15	
Val	Ala	Asn	Arg	Gly	Glu	Ile	Ala	Val	Arg	Ala	Phe	Arg	Ala	Ala	Tyr
		20						25					30		
Glu	Thr	Gly	Ala	Ala	Thr	Val	Ala	Ile	Tyr	Pro	Arg	Glu	Asp	Arg	Gly
		35					40					45			
Ser	Phe	His	Arg	Ser	Phe	Ala	Ser	Glu	Ala	Val	Arg	Ile	Gly	Thr	Glu
	50					55					60				
Gly	Ser	Pro	Val	Lys	Ala	Tyr	Leu	Asp	Ile	Asp	Glu	Ile	Ile	Asn	Ala
65					70					75					80
Ala	Lys	Lys	Val	Lys	Ala	Asp	Ala	Val	Tyr	Pro	Gly	Tyr	Gly	Phe	Leu
				85				90						95	
Ser	Glu	Asn	Ala	Gln	Leu	Ala	Arg	Glu	Cys	Ala	Glu	Asn	Gly	Ile	Thr
		100						105					110		
Phe	Ile	Gly	Pro	Thr	Pro	Glu	Val	Leu	Asp	Leu	Thr	Gly	Asp	Lys	Ser
	115					120						125			
Lys	Ala	Val	Ser	Ala	Ala	Lys	Lys	Ala	Gly	Leu	Pro	Val	Leu	Ala	Glu
130						135				140					
Ser	Thr	Pro	Ser	Thr	Asp	Ile	Asp	Glu	Ile	Val	Lys	Ser	Ala	Glu	Gly
145					150					155					160
Gln	Thr	Tyr	Pro	Ile	Phe	Val	Lys	Ala	Val	Ala	Gly	Gly	Gly	Gly	Arg
				165				170						175	
Gly	Met	Arg	Phe	Val	Glu	Lys	Pro	Glu	Asp	Leu	Arg	Glu	Leu	Ala	Arg
		180						185					190		
Glu	Ala	Ser	Arg	Glu	Ala	Glu	Ala	Ala	Phe	Gly	Asp	Gly	Ser	Val	Tyr
		195					200					205			
Val	Glu	Arg	Ala	Val	Ile	Lys	Pro	Gln	His	Ile	Glu	Val	Gln	Ile	Leu
	210					215				220					
Gly	Asp	His	Thr	Gly	Asp	Val	Ile	His	Leu	Tyr	Glu	Arg	Asp	Cys	Ser
225					230					235					240
Leu	Gln	Arg	Arg	His	Gln	Lys	Val	Val	Glu	Ile	Ala	Pro	Ala	Gln	His
				245				250						255	
Leu	Asp	Pro	Glu	Leu	Arg	Asp	Arg	Ile	Cys	Ala	Asp	Ala	Val	Lys	Phe
		260						265					270		
Cys	Lys	Ser	Ile	Gly	Tyr	Gln	Gly	Ala	Gly	Thr	Val	Glu	Phe	Leu	Val

THIS PAGE BLANK (USPTO)

50/123

275	280	285
Asp Glu Ala Gly Asn His Val Phe Ile Glu Met Asn Pro Arg Ile Gln		
290	295	300
Val Glu His Thr Val Thr Glu Glu Val Thr Ser Val Asp Leu Val Lys		
305	310	315
Ala Gln Met His Leu Ala Ala Gly Ala Thr Leu Lys Glu Leu Gly Leu		
325	330	335
Thr Gln Asp Lys Ile Thr Thr His Gly Ala Ala Leu Gln Cys Arg Ile		
340	345	350
Thr Thr Glu Asp Pro Ser Asn Asn Phe Arg Pro Asp Thr Gly Val Ile		
355	360	365
Thr Ala Tyr Arg Ser Pro Gly Gly Ala Gly Val Arg Leu Asp Gly Ala		
370	375	380
Ala Gln Leu Gly Gly Glu Ile Thr Ala His Phe Asp Ser Met Leu Val		
385	390	395
Lys Met Thr Cys Arg Gly Ser Asp Phe Glu Thr Ala Val Ser Arg Ala		
405	410	415
Gln Arg Ala Leu Ala Glu Phe Asn Val Ser Gly Val Ala Thr Asn Ile		
420	425	430
Gly Phe Leu Arg Ala Leu Leu Arg Glu Glu Asp Phe Thr Lys Arg Arg		
435	440	445
Ile Asp Thr Gly Phe Ile Gly Ser His Gln His Leu Leu Gln Ala Pro		
450	455	460
Pro Ala Asp Asp Glu Gln Gly Arg Ile Leu Glu Tyr Leu Ala Asp Val		
465	470	475
Thr Val Asn Lys Pro His Gly Glu Arg Pro Glu Thr Ala Arg Pro Ile		
485	490	495
Glu Lys Leu Pro Glu Val Glu Asn Ile Pro Leu Pro Arg Gly Ser Arg		
500	505	510
Asp Arg Leu Lys Gln Leu Gly Pro Glu Gly Phe Ala Arg Asp Leu Arg		
515	520	525
Glu Gln Asp Ala Leu Ala Val Thr Asp Thr Thr Phe Arg Asp Ala His		
530	535	540
Gln Ser Leu Leu Ala Thr Arg Val Arg Ser Phe Ala Leu Thr Pro Ala		
545	550	555
Ala Arg Ala Val Ala Lys Leu Thr Pro Glu Leu Leu Ser Val Glu Ala		
565	570	575
Trp Gly Gly Ala Thr Tyr Asp Val Ala Met Arg Phe Leu Phe Glu Asp		
580	585	590
Pro Trp Ala Arg Leu Asp Glu Leu Arg Glu Ala Met Pro Asn Val Asn		
595	600	605
Ile Gln Met Leu Leu Arg Gly Arg Asn Thr Val Gly Tyr Thr Pro Tyr		
610	615	620

THIS PAGE BLANK (USPTO)

51/123

Pro	Asp	Ser	Val	Cys	Arg	Ala	Phe	Val	Gln	Glu	Ala	Ala	Lys	Ser	Gly	625	630	635	640
Val	Asp	Ile	Phe	Arg	Ile	Phe	Asp	Ala	Leu	Asn	Asp	Ile	Ser	Gln	Met	645	650	655	
Arg	Pro	Ala	Ile	Asp	Ala	Val	Leu	Glu	Thr	Gly	Thr	Ser	Val	Ala	Glu	660	665	670	
Val	Ala	Met	Ala	Tyr	Ser	Gly	Asp	Leu	Ser	Asn	Pro	Gly	Glu	Lys	Leu	675	680	685	
Tyr	Thr	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Leu	Asn	Leu	Ala	Glu	Gln	Ile	Val	Asp	Ser	690	695	700	
Gly	Ala	His	Ile	Leu	Ala	Ile	Lys	Asp	Met	Ala	Gly	Leu	Leu	Arg	Arg	705	710	715	720
Ala	Ala	Ala	Pro	Lys	Leu	Val	Thr	Ala	Leu	Arg	Arg	Glu	Phe	Asp	Leu	725	730	735	
Pro	Val	His	Val	His	Thr	His	Asp	Thr	Ala	Gly	Gly	Gln	Leu	Ala	Thr	740	745	750	
Tyr	Leu	Ala	Ala	Ala	Asn	Ala	Gly	Ala	Asp	Ala	Val	Asp	Ala	Ala	Ser	755	760	765	
Ala	Pro	Leu	Ser	Gly	Thr	Thr	Ser	Gln	Pro	Ser	Met	Ser	Ala	Leu	Val	770	775	780	
Ala	Ala	Phe	Ala	His	Thr	Arg	Arg	Asp	Thr	Gly	Leu	Asn	Leu	Gln	Ala	785	790	795	800
Val	Ser	Asp	Leu	Glu	Pro	Tyr	Trp	Glu	Ala	Val	Arg	Gly	Leu	Tyr	Leu	805	810	815	
Pro	Phe	Glu	Ser	Gly	Thr	Pro	Gly	Pro	Thr	Gly	Arg	Val	Tyr	Arg	His	820	825	830	
Glu	Ile	Pro	Gly	Gly	Gln	Leu	Ser	Asn	Leu	Arg	Ala	Gln	Ala	Val	Ala	835	840	845	
Leu	Gly	Leu	Ala	Asp	Arg	Phe	Glu	Leu	Ile	Glu	Asp	Tyr	Tyr	Ala	Ala	850	855	860	
Val	Asn	Glu	Met	Leu	Gly	Arg	Pro	Thr	Lys	Val	Thr	Pro	Ser	Ser	Lys	865	870	875	880
Val	Val	Gly	Asp	Leu	Ala	Leu	His	Leu	Val	Gly	Ala	Gly	Val	Ser	Pro	885	890	895	
Glu	Asp	Phe	Ala	Ala	Asp	Pro	Gln	Lys	Tyr	Asp	Ile	Pro	Asp	Ser	Val	900	905	910	
Ile	Ala	Phe	Leu	Arg	Gly	Glu	Leu	Gly	Thr	Pro	Pro	Gly	Gly	Trp	Pro	915	920	925	
Glu	Pro	Leu	Arg	Thr	Arg	Ala	Leu	Glu	Gly	Arg	Ser	Gln	Gly	Lys	Ala	930	935	940	
Pro	Leu	Ala	Glu	Ile	Pro	Ala	Glu	Glu	Gln	Ala	His	Leu	Asp	Ser	Asp	945	950	955	960
Asp	Ser	Ala	Glu	Arg	Arg	Gly	Thr	Leu	Asn	Arg	Leu	Leu	Phe	Pro	Lys				

THIS PAGE BLANK (USPTO)



52/123

965														970				975							
Pro	Thr	Glu	Glu	Phe	Leu	Glu	His	Arg	Arg	Arg	Phe	Gly	Asn	Thr	Ser										
980														985				990							
Ala	Leu	Asp	Asp	Arg	Glu	Phe	Phe	Tyr	Gly	Leu	Lys	Glu	Gly	Arg	Glu										
995														1000				1005							
Glu	Leu	Ile	Arg	Leu	Thr	Gly	Val	Ser	Thr	Pro	Met	Val	Val	Arg	Leu										
1010														1015				1020							
Asp	Ala	Val	Ser	Glu	Pro	Asp	Asp	Lys	Gly	Met	Arg	Asn	Val	Val	Val										
1025														1030				1035				1040			
Asn	Val	Asn	Gly	Gln	Ile	Arg	Pro	Ile	Lys	Val	Arg	Asp	Arg	Ser	Val										
1045														1050				1055							
Glu	Ser	Val	Thr	Ala	Thr	Ala	Glu	Lys	Ala	Asp	Ala	Thr	Asn	Lys	Gly										
1060														1065				1070							
His	Val	Ala	Ala	Pro	Phe	Ala	Gly	Val	Val	Thr	Val	Thr	Val	Ala	Glu										
1075														1080				1085							
Gly	Asp	Glu	Ile	Lys	Ala	Gly	Asp	Ala	Val	Ala	Ile	Ile	Glu	Ala	Met										
1090														1095				1100							
Lys	Met	Glu	Ala	Thr	Ile	Thr	Ala	Pro	Val	Asp	Gly	Val	Ile	Asp	Arg										
1105														1110				1115				1120			
Val	Val	Val	Pro	Ala	Ala	Thr	Lys	Val	Glu	Gly	Gly	Asp	Leu	Ile	Val										
1125														1130				1135							
Val	Val	Ser																							

```
<210> 25
<211> 3306
<212> DNA
<213> Corynebacterium thermoaminogenes
```

```
<220>  
<221> CDS  
<222> (64)..(2820)
```

<400> 25																	
gatcaaccta agccaggaga atccggcggg cggtttctac ttctacagga gctgaacccc																	60
acc gtg aat gaa ctt ctc cgt gac gat atc cgt tat ctc ggc cgg atc																	108
Val Asn Glu Leu Leu Arg Asp Asp Ile Arg Tyr Leu Gly Arg Ile																	
1 5 10 15																	
ctg ggc gag gtg atc tcc gag cag gag ggc cac cat gtc ttc gaa ctg																	156
Leu Gly Glu Val Ile Ser Glu Gln Glu Gly His His Val Phe Glu Leu																	
20 25 30																	
gtt gaa cgc gcc cgc cgg acc tcc ttc gac atc gcc aag gga cgc gcg																	204
Val Glu Arg Ala Arg Arg Thr Ser Phe Asp Ile Ala Lys Gly Arg Ala																	



THIS PAGE BLANK (USPTO)

			35				40				45							
gag	atg	gac	agt	ctg	gtg	gag	gtg	ttc	gct	ggc	atc	gac	ccg	gag	gac		252	
Glu	Met	Asp	Ser	Leu	Val	Glu	Val	Phe	Ala	Gly	Ile	Asp	Pro	Glu	Asp			
			50				55				60							
gcc	acg	ccc	gtg	gcc	cga	gcc	ttc	acc	cat	ttc	gcc	ctg	ttg	gcc	aac		300	
Ala	Thr	Pro	Val	Ala	Arg	Ala	Phe	Thr	His	Phe	Ala	Leu	Leu	Ala	Asn			
			65				70				75							
ctc	gcg	gag	gat	ttg	cat	gac	gca	gcc	cag	cgg	gaa	cag	gcc	ctg	aac		348	
Leu	Ala	Glu	Asp	Leu	His	Asp	Ala	Ala	Gln	Arg	Glu	Gln	Ala	Leu	Asn			
			80				85				90				95			
tcg	ggt	gag	ccc	gcg	ccg	gac	agc	acc	ctc	gag	gcc	acc	tgg	gtg	aaa		396	
Ser	Gly	Glu	Pro	Ala	Pro	Asp	Ser	Thr	Leu	Glu	Ala	Thr	Trp	Val	Lys			
			100				105				110							
ctg	gat	gat	gcc	ggg	gtg	ggc	agc	ggt	gag	gtc	gcc	gcg	gtg	atc	cgc		444	
Leu	Asp	Asp	Ala	Gly	Val	Gly	Ser	Gly	Glu	Val	Ala	Ala	Val	Ile	Arg			
			115				120				125							
aat	gcg	ctc	gtc	gcc	ccg	gtg	ctc	acc	gcg	cac	ccg	acg	gaa	acc	cga		492	
Asn	Ala	Leu	Val	Ala	Pro	Val	Leu	Thr	Ala	His	Pro	Thr	Glu	Thr	Arg			
			130				135				140							
cgt	cgt	acc	gtg	ttc	gac	gcg	cag	aag	cac	atc	acc	gcc	ctg	atg	gag		540	
Arg	Arg	Thr	Val	Phe	Asp	Ala	Gln	Lys	His	Ile	Thr	Ala	Leu	Met	Glu			
			145				150				155							
gaa	cgc	cac	ctc	ctc	ctg	gcg	ctg	ccc	acg	cat	gcc	cgg	acc	cag	tcc		588	
Glu	Arg	His	Leu	Leu	Leu	Ala	Leu	Pro	Thr	His	Ala	Arg	Thr	Gln	Ser			
			160				165				170				175			
aag	ctg	gat	gac	atc	gag	cgc	aac	atc	cgg	cga	cgg	atc	acg	atc	ctg		636	
Lys	Leu	Asp	Asp	Ile	Glu	Arg	Asn	Ile	Arg	Arg	Arg	Ile	Thr	Ile	Leu			
			180				185				190							
tgg	cag	acg	gcc	ctc	atc	cgt	gtg	gcc	cgt	ccc	cgc	atc	gag	gat	gag		684	
Trp	Gln	Thr	Ala	Leu	Ile	Arg	Val	Ala	Arg	Pro	Arg	Ile	Glu	Asp	Glu			
			195				200				205							
gtc	gag	gtt	gga	ctg	cgc	tac	tac	aag	ctc	agc	ctg	ttg	gcc	gag	atc		732	
Val	Glu	Val	Gly	Leu	Arg	Tyr	Tyr	Lys	Leu	Ser	Leu	Leu	Ala	Glu	Ile			
			210				215				220							
ccc	cgc	atc	aat	cat	gat	gtg	acc	gtg	gaa	ctg	gcc	cgg	cgt	ttc	ggc		780	
Pro	Arg	Ile	Asn	His	Asp	Val	Thr	Val	Glu	Leu	Ala	Arg	Arg	Phe	Gly			
			225				230				235							
ggg	gat	atc	ccc	acc	acg	gcg	atg	gtc	agg	ccg	gga	tcc	tgg	atc	ggc		828	
Gly	Asp	Ile	Pro	Thr	Thr	Ala	Met	Val	Arg	Pro	Gly	Ser	Trp	Ile	Gly			
			240				245				250				255			
ggg	gac	cat	gat	ggc	aac													

THIS PAGE BLANK (USPTO)

54/123

gcc acc cat cgg gcc gcg gag acc gtg ctc aag tac tac gtc aag caa	924
Ala Thr His Arg Ala Ala Glu Thr Val Leu Lys Tyr Tyr Val Lys Gln	
275 280 285	
ctg cac gcc ctg gaa cac gaa ctc agt ctc tcc gac cgg atg aac gtc	972
Leu His Ala Leu Glu His Glu Leu Ser Leu Ser Asp Arg Met Asn Val	
290 295 300	
atc agc gat gag ctg cgt gtg ctt gcc gat gcc ggc cag aat gac atg	1020
Ile Ser Asp Glu Leu Arg Val Leu Ala Asp Ala Gly Gln Asn Asp Met	
305 310 315	
ccc agc cgg gtt gat gaa ccc tac cgg cgg gcc atc cac ggc atg cgt	1068
Pro Ser Arg Val Asp Glu Pro Tyr Arg Arg Ala Ile His Gly Met Arg	
320 325 330 335	
ggc cgg atg ctg gcc acc acg gcc gcc ctg atc ggt gag gag gcg gtc	1116
Gly Arg Met Leu Ala Thr Thr Ala Ala Leu Ile Gly Glu Glu Ala Val	
340 345 350	
gag ggc acc tgg ttc aag acc ttc acg ccc tat acc gat acc cac gag	1164
Glu Gly Thr Trp Phe Lys Thr Phe Thr Pro Tyr Thr Asp Thr His Glu	
355 360 365	
ttc aaa cgc gac ctc gat atc gtg gat ggt tcc ctg aga atg tcc cgg	1212
Phe Lys Arg Asp Leu Asp Ile Val Asp Gly Ser Leu Arg Met Ser Arg	
370 375 380	
gat gac atc atc gcc gat gac cgt ctg gcc atg ctg cgc tcg gcc ctg	1260
Asp Asp Ile Ile Ala Asp Asp Arg Leu Ala Met Leu Arg Ser Ala Leu	
385 390 395	
gac agc ttc ggg ttc aac ctc tac tcc ctg gat ctg cgc cag aat tcc	1308
Asp Ser Phe Gly Phe Asn Leu Tyr Ser Leu Asp Leu Arg Gln Asn Ser	
400 405 410 415	
gac ggt ttc gag gat gtc ctc acc gaa ttg ttc gcc acc gcc cag acc	1356
Asp Gly Phe Glu Asp Val Leu Thr Glu Leu Phe Ala Thr Ala Gln Thr	
420 425 430	
gag aag aac tac cgc ggg ttg acg gag gcg gag aag ctg gac ctg ctg	1404
Glu Lys Asn Tyr Arg Gly Leu Thr Glu Ala Glu Lys Leu Asp Leu Leu	
435 440 445	
atc cgc gaa ctg agc aca ccc cgc ccg ctc atc ccg cac ggg gac ccg	1452
Ile Arg Glu Leu Ser Thr Pro Arg Pro Leu Ile Pro His Gly Asp Pro	
450 455 460	
gac tac tcc gag gcc acc aac cgt gaa ctg ggg att ttt tcg aag gcc	1500
Asp Tyr Ser Glu Ala Thr Asn Arg Glu Leu Gly Ile Phe Ser Lys Ala	
465 470 475	
gcg gag gcc gtg cgt aaa ttc ggt cct ctc atg gtg ccg cac tgc atc	1548
Ala Glu Ala Val Arg Lys Phe Gly Pro Leu Met Val Pro His Cys Ile	
480 485 490 495	
atc tcc atg gcc tct tcc gtc acg gac atc ctc gaa ccg atg gtg ctg	1596

THIS PAGE BLANK (USPTO)

55/123

Ile	Ser	Met	Ala	Ser	Ser	Val	Thr	Asp	Ile	Leu	Glu	Pro	Met	Val	Leu	
				500					505					510		
ctc	aag	gag	ttc	ggt	ctg	atc	cgg	gcc	aac	ggg	aag	aac	ccg	acg	ggc	1644
Leu	Lys	Glu	Phe	Gly	Leu	Ile	Arg	Ala	Asn	Gly	Lys	Asn	Pro	Thr	Gly	
			515					520					525			
agc	gtc	gac	gtg	atc	ccg	ctg	ttc	gag	acg	atc	gat	gac	ctc	cag	cgt	1692
Ser	Val	Asp	Val	Ile	Pro	Leu	Phe	Glu	Thr	Ile	Asp	Asp	Leu	Gln	Arg	
		530					535					540				
ggc	gcg	ggc	atc	ctg	gag	gaa	ttg	tgg	gac	atc	gac	ctc	tac	cgc	aat	1740
Gly	Ala	Gly	Ile	Leu	Glu	Glu	Leu	Trp	Asp	Ile	Asp	Leu	Tyr	Arg	Asn	
	545				550						555					
tac	ctt	gag	cag	cgg	gac	aac	gtc	cag	gag	gtc	atg	ctg	ggg	tat	tcc	1788
Tyr	Leu	Glu	Gln	Arg	Asp	Asn	Val	Gln	Glu	Val	Met	Leu	Gly	Tyr	Ser	
560				565					570					575		
gac	tcc	aac	aag	gac	ggc	ggg	tac	ttc	gcc	gcc	aac	tgg	gcg	ctt	tac	1836
Asp	Ser	Asn	Lys	Asp	Gly	Gly	Tyr	Phe	Ala	Ala	Asn	Trp	Ala	Leu	Tyr	
			580					585					590			
gac	gcg	gag	tta	cgc	ctg	gtc	gaa	cta	tgc	cgg	ggc	cgt	aat	gtc	aag	1884
Asp	Ala	Glu	Leu	Arg	Leu	Val	Glu	Leu	Cys	Arg	Gly	Arg	Asn	Val	Lys	
			595				600					605				
ctc	cgt	ctc	ttc	cac	ggt	cgt	ggt	ggc	acg	gtg	ggt	cgt	ggc	ggt	ggc	1932
Leu	Arg	Leu	Phe	His	Gly	Arg	Gly	Gly	Thr	Val	Gly	Arg	Gly	Gly	Gly	
	610						615					620				
ccc	tcc	tat	gat	gcg	atc	ctg	gcc	cag	ccc	aag	ggc	gcg	gtc	cgg	ggt	1980
Pro	Ser	Tyr	Asp	Ala	Ile	Leu	Ala	Gln	Pro	Lys	Gly	Ala	Val	Arg	Gly	
	625					630					635					
gcg	gtg	cgg	gtg	act	gaa	cag	ggc	gag	atc	atc	tcc	gcg	aag	tac	ggt	2028
Ala	Val	Arg	Val	Thr	Glu	Gln	Gly	Glu	Ile	Ile	Ser	Ala	Lys	Tyr	Gly	
640					645				650					655		
aac	ccg	gat	acg	gca	cgc	cgc	aac	ctt	gag	gcc	ctg	gtg	tcc	gcg	acg	2076
Asn	Pro	Asp	Thr	Ala	Arg	Arg	Asn	Leu	Glu	Ala	Leu	Val	Ser	Ala	Thr	
			660				665					670				
ctg	gag	gca	tcg	ctt	ctg	gat	gat	gtg	gaa	ctg	ccc	aat	cgg	gaa	cgc	2124
Leu	Glu	Ala	Ser	Leu	Leu	Asp	Asp	Val	Glu	Leu	Pro	Asn	Arg	Glu	Arg	
			675				680					685				
gcg	cac	cag	atc	atg	ggg	gag	atc	tcg	gag	ttg	agc	ttc	cgc	agg	tac	2172
Ala	His	Gln	Ile	Met	Gly	Glu	Ile	Ser	Glu	Leu	Ser	Phe	Arg	Arg	Tyr	
		690					695					700				
tca	tca	ctg	gtc	cat	gag	gat	ccc	gga	ttc	atc	cag	tac	ttc	acc	cag	2220
Ser	Ser	Leu	Val	His	Glu	Asp	Pro	Gly	Phe	Ile	Gln	Tyr	Phe	Thr	Gln	
	705					710					715					
tcc	acc	ccc	ctg	cag	gag	atc	gga	tcc	ctc	aac	atc	ggt	tcc	cga	ccc	2268
Ser	Thr	Pro	Leu	Gln	Glu	Ile	Gly	Ser	Leu	Asn	Ile	Gly	Ser	Arg	Pro	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

56/123

720	725	730	735	
tcc tca cgt aaa cag acc aac acg gtg gag gat ctg cgt gcc atc ccg				2316
Ser Ser Arg Lys Gln Thr Asn Thr Val Glu Asp Leu Arg Ala Ile Pro				
	740	745	750	
tgg gtg ctc agc tgg tcc cag tcc cgt gtc atg ctg ccg ggc tgg ttc				2364
Trp Val Leu Ser Trp Ser Gln Ser Arg Val Met Leu Pro Gly Trp Phe				
	755	760	765	
ggt gtg ggt acc gca ctg cgt gag tgg atc ggt gag ggg gag ggg gct				2412
Gly Val Gly Thr Ala Leu Arg Glu Trp Ile Gly Glu Gly Glu Gly Ala				
	770	775	780	
gcg gag cgc atc gcg gag ctg cag gaa ctc aac cgg tgc tgg ccg ttc				2460
Ala Glu Arg Ile Ala Glu Leu Gln Glu Leu Asn Arg Cys Trp Pro Phe				
	785	790	795	
ttc acc tcg gtg ctg gac aac atg gcc cag gtg atg agc aag gcg gaa				2508
Phe Thr Ser Val Leu Asp Asn Met Ala Gln Val Met Ser Lys Ala Glu				
800	805	810	815	
ctg cgc ctg gcc agg ttg tac gcc gat ctc atc ccg gat cgc gag gtg				2556
Leu Arg Leu Ala Arg Leu Tyr Ala Asp Leu Ile Pro Asp Arg Glu Val				
	820	825	830	
gcg gac cgg atc tat gag acc atc ttc ggg gag tat ttc ctg acc aag				2604
Ala Asp Arg Ile Tyr Glu Thr Ile Phe Gly Glu Tyr Phe Leu Thr Lys				
	835	840	845	
gag atg ttc tgc acc atc acc ggt tcc cag gac ctg ctc gat gac aac				2652
Glu Met Phe Cys Thr Ile Thr Gly Ser Gln Asp Leu Leu Asp Asp Asn				
	850	855	860	
ccg gcg ctg gcg cga tcg gtg cgc agt cgg ttc ccg tac ctg ctg ccg				2700
Pro Ala Leu Ala Arg Ser Val Arg Ser Arg Phe Pro Tyr Leu Leu Pro				
	865	870	875	
ctc aat gtc atc cag gtg gag atg atg cgc cgg tac cgg tcc ggt gat				2748
Leu Asn Val Ile Gln Val Glu Met Met Arg Arg Tyr Arg Ser Gly Asp				
880	885	890	895	
gag ggc acg gct gtc cca cgt aat atc cgc ctg acc atg aat gga ttg				2796
Glu Gly Thr Ala Val Pro Arg Asn Ile Arg Leu Thr Met Asn Gly Leu				
	900	905	910	
tcc acg gcc ctg cgc aac tcg ggt tagggcgcca gacgccccgg gaaccgcac				2850
Ser Thr Ala Leu Arg Asn Ser Gly				
	915			
cctgtgtata ctgtctaaag ttgccgggtg tcatccgggc gtgatggata gacaacttaa				2910
cggaagga ttctcccccac atggcactga cgcttcaaat cgtcctcggt ctcgccagcg				2970
tgtcatgac ggtcttcgtc ctgctgcaca agggtaaggg cggaggtctg tcaagcctct				3030
tcggtggtgg cgctccagtcc aacctctccg gttccacggg ggtggagaag aacctggacc				3090
gcgtaccat cctgaccgca gtcattctggt tgatctgcat tgctcgctc aacctcctcc				3150
aggcgtactc ctgacacctg atctttcaag gcctgccctt cggggcaggc cttttttgca				3210

THIS PAGE BLANK (USPTO)

```
ttctccaggt gatgtccatc acccaccggt tttaaactat tgaccgatat aaacacctgc 3270
actaggttat ctgttatgca atagaaaata gtgcat 3306
```

<210> 26
<211> 919
<212> PRT
<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<400> 26															
Val	Asn	Glu	Leu	Leu	Arg	Asp	Asp	Ile	Arg	Tyr	Leu	Gly	Arg	Ile	Leu
1				5					10					15	
Gly	Glu	Val	Ile	Ser	Glu	Gln	Glu	Gly	His	His	Val	Phe	Glu	Leu	Val
			20					25					30		
Glu	Arg	Ala	Arg	Arg	Thr	Ser	Phe	Asp	Ile	Ala	Lys	Gly	Arg	Ala	Glu
		35					40					45			
Met	Asp	Ser	Leu	Val	Glu	Val	Phe	Ala	Gly	Ile	Asp	Pro	Glu	Asp	Ala
	50					55					60				
Thr	Pro	Val	Ala	Arg	Ala	Phe	Thr	His	Phe	Ala	Leu	Leu	Ala	Asn	Leu
65				70					75						80
Ala	Glu	Asp	Leu	His	Asp	Ala	Ala	Gln	Arg	Glu	Gln	Ala	Leu	Asn	Ser
				85				90						95	
Gly	Glu	Pro	Ala	Pro	Asp	Ser	Thr	Leu	Glu	Ala	Thr	Trp	Val	Lys	Leu
			100					105					110		
Asp	Asp	Ala	Gly	Val	Gly	Ser	Gly	Glu	Val	Ala	Ala	Val	Ile	Arg	Asn
		115					120					125			
Ala	Leu	Val	Ala	Pro	Val	Leu	Thr	Ala	His	Pro	Thr	Glu	Thr	Arg	Arg
		130				135					140				
Arg	Thr	Val	Phe	Asp	Ala	Gln	Lys	His	Ile	Thr	Ala	Leu	Met	Glu	Glu
145					150					155					160
Arg	His	Leu	Leu	Leu	Ala	Leu	Pro	Thr	His	Ala	Arg	Thr	Gln	Ser	Lys
				165				170						175	
Leu	Asp	Asp	Ile	Glu	Arg	Asn	Ile	Arg	Arg	Arg	Ile	Thr	Ile	Leu	Trp
			180					185					190		
Gln	Thr	Ala	Leu	Ile	Arg	Val	Ala	Arg	Pro	Arg	Ile	Glu	Asp	Glu	Val
		195					200					205			
Glu	Val	Gly	Leu	Arg	Tyr	Tyr	Lys	Leu	Ser	Leu	Leu	Ala	Glu	Ile	Pro
		210				215					220				
Arg	Ile	Asn	His	Asp	Val	Thr	Val	Glu	Leu	Ala	Arg	Arg	Phe	Gly	Gly
225					230					235					240
Asp	Ile	Pro	Thr	Thr	Ala	Met	Val	Arg	Pro	Gly	Ser	Trp	Ile	Gly	Gly
				245				250						255	
Asp	His	Asp	Gly	Asn	Pro	Phe	Val	Thr	Ala	Glu	Thr	Val	Thr	Tyr	Ala
			260					265						270	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Thr	His	Arg	Ala	Ala	Glu	Thr	Val	Leu	Lys	Tyr	Tyr	Val	Lys	Gln	Leu
		275					280					285			
His	Ala	Leu	Glu	His	Glu	Leu	Ser	Leu	Ser	Asp	Arg	Met	Asn	Val	Ile
	290					295					300				
Ser	Asp	Glu	Leu	Arg	Val	Leu	Ala	Asp	Ala	Gly	Gln	Asn	Asp	Met	Pro
305					310					315					320
Ser	Arg	Val	Asp	Glu	Pro	Tyr	Arg	Arg	Ala	Ile	His	Gly	Met	Arg	Gly
				325					330					335	
Arg	Met	Leu	Ala	Thr	Thr	Ala	Ala	Leu	Ile	Gly	Glu	Glu	Ala	Val	Glu
			340					345					350		
Gly	Thr	Trp	Phe	Lys	Thr	Phe	Thr	Pro	Tyr	Thr	Asp	Thr	His	Glu	Phe
		355					360					365			
Lys	Arg	Asp	Leu	Asp	Ile	Val	Asp	Gly	Ser	Leu	Arg	Met	Ser	Arg	Asp
	370					375					380				
Asp	Ile	Ile	Ala	Asp	Asp	Arg	Leu	Ala	Met	Leu	Arg	Ser	Ala	Leu	Asp
385					390					395					400
Ser	Phe	Gly	Phe	Asn	Leu	Tyr	Ser	Leu	Asp	Leu	Arg	Gln	Asn	Ser	Asp
				405					410					415	
Gly	Phe	Glu	Asp	Val	Leu	Thr	Glu	Leu	Phe	Ala	Thr	Ala	Gln	Thr	Glu
			420				425						430		
Lys	Asn	Tyr	Arg	Gly	Leu	Thr	Glu	Ala	Glu	Lys	Leu	Asp	Leu	Leu	Ile
		435					440					445			
Arg	Glu	Leu	Ser	Thr	Pro	Arg	Pro	Leu	Ile	Pro	His	Gly	Asp	Pro	Asp
	450					455					460				
Tyr	Ser	Glu	Ala	Thr	Asn	Arg	Glu	Leu	Gly	Ile	Phe	Ser	Lys	Ala	Ala
465					470					475					480
Glu	Ala	Val	Arg	Lys	Phe	Gly	Pro	Leu	Met	Val	Pro	His	Cys	Ile	Ile
				485					490					495	
Ser	Met	Ala	Ser	Ser	Val	Thr	Asp	Ile	Leu	Glu	Pro	Met	Val	Leu	Leu
			500					505					510		
Lys	Glu	Phe	Gly	Leu	Ile	Arg	Ala	Asn	Gly	Lys	Asn	Pro	Thr	Gly	Ser
		515					520					525			
Val	Asp	Val	Ile	Pro	Leu	Phe	Glu	Thr	Ile	Asp	Asp	Leu	Gln	Arg	Gly
	530					535					540				
Ala	Gly	Ile	Leu	Glu	Glu	Leu	Trp	Asp	Ile	Asp	Leu	Tyr	Arg	Asn	Tyr
545					550					555					560
Leu	Glu	Gln	Arg	Asp	Asn	Val	Gln	Glu	Val	Met	Leu	Gly	Tyr	Ser	Asp
				565					570					575	
Ser	Asn	Lys	Asp	Gly	Gly	Tyr	Phe	Ala	Ala	Asn	Trp	Ala	Leu	Tyr	Asp
			580					585					590		
Ala	Glu	Leu	Arg	Leu	Val	Glu	Leu	Cys	Arg	Gly	Arg	Asn	Val	Lys	Leu
		595					600					605			
Arg	Leu	Phe	His	Gly	Arg	Gly	Gly	Thr	Val	Gly	Arg	Gly	Gly	Gly	Pro

THIS PAGE BLANK (USPTO)

59/123

610	615	620
Ser Tyr Asp Ala Ile	Leu Ala Gln Pro Lys Gly	Ala Val Arg Gly Ala
625	630	635
Val Arg Val Thr	Glu Gln Gly Glu Ile Ile	Ser Ala Lys Tyr Gly Asn
645	650	655
Pro Asp Thr Ala Arg	Arg Asn Leu Glu Ala Leu	Val Ser Ala Thr Leu
660	665	670
Glu Ala Ser Leu Leu	Asp Asp Val Glu Leu Pro	Asn Arg Glu Arg Ala
675	680	685
His Gln Ile Met Gly	Glu Ile Ser Glu Leu Ser	Phe Arg Arg Tyr Ser
690	695	700
Ser Leu Val His Glu	Asp Pro Gly Phe Ile Gln	Tyr Phe Thr Gln Ser
705	710	715
Thr Pro Leu Gln Glu	Ile Gly Ser Leu Asn Ile	Gly Ser Arg Pro Ser
725	730	735
Ser Arg Lys Gln Thr	Asn Thr Val Glu Asp Leu	Arg Ala Ile Pro Trp
740	745	750
Val Leu Ser Trp Ser	Gln Ser Arg Val Met Leu	Pro Gly Trp Phe Gly
755	760	765
Val Gly Thr Ala Leu	Arg Glu Trp Ile Gly Glu	Gly Glu Gly Ala Ala
770	775	780
Glu Arg Ile Ala Glu	Leu Gln Glu Leu Asn	Arg Cys Trp Pro Phe Phe
785	790	795
Thr Ser Val Leu Asp	Asn Met Ala Gln Val	Met Ser Lys Ala Glu Leu
805	810	815
Arg Leu Ala Arg Leu	Tyr Ala Asp Leu Ile	Pro Asp Arg Glu Val Ala
820	825	830
Asp Arg Ile Tyr Glu	Thr Ile Phe Gly Glu	Tyr Phe Leu Thr Lys Glu
835	840	845
Met Phe Cys Thr Ile	Thr Gly Ser Gln Asp	Leu Leu Asp Asp Asn Pro
850	855	860
Ala Leu Ala Arg Ser	Val Arg Ser Arg Phe	Pro Tyr Leu Leu Pro Leu
865	870	875
Asn Val Ile Gln Val	Glu Met Met Arg Arg	Tyr Arg Ser Gly Asp Glu
885	890	895
Gly Thr Ala Val Pro	Arg Asn Ile Arg Leu	Thr Met Asn Gly Leu Ser
900	905	910
Thr Ala Leu Arg Asn	Ser Gly	
915		

<210> 27

<211> 3907

<212> DNA

THIS PAGE BLANK (USPTO)

60/123

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (686)..(3388)

<400> 27

```

attacttcag ctgactcage aacattcgta ttaggtatgc aaacaacatt tggttcgtta 60
aatccaagta gatatggtaa agtaacttgg ggtattgctc aagcacttat cgcctttgta 120
ttattattag ctggtggcgg agatggaaact aaagctctca acgcaattca gaggccgct 180
attattagtg cgtttccatt ctctttgtc gtcattataa tgatgatcag tttctacaaa 240
gatgctaata aagaacgtaa attcttagga ttaacattaa cgcctaataa acacagatta 300
gaagaatacg ttaaatatca acaagaggat tacgaatctg atattttaga aaaacgtgaa 360
tctagacgta atcgtgaaag agaagaataa ttgaatgaaa tatctactat aatgggtgggt 420
ttaaagctat caacaatttt gttgatagct atttttatgt ttcaaacata taaatattat 480
ttacttgcca ttgataacca ttctcaatta ataaaaataa cttatagtac aaatgcgtta 540
taataagttt tacttatact acctgattaa aaatgcgaaa tgaaaaatga cccctttata 600
tacctataca gttgtgttcg aaaacatata ataatacaat ttaactaagg catataaata 660
tatagaaatt caagggggat atcaa atg gct tct aat ttt aaa gaa aca gcg 712
                                Met Ala Ser Asn Phe Lys Glu Thr Ala
                                1                                5

aag aaa caa ttt gat tta aat ggc caa tca tac acg tac tat gat tta 760
Lys Lys Gln Phe Asp Leu Asn Gly Gln Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asp Leu
10                                15                                20                                25

aaa tca tta gaa gaa caa ggt tta act aaa att tca aag tta cct tat 808
Lys Ser Leu Glu Glu Gln Gly Leu Thr Lys Ile Ser Lys Leu Pro Tyr
30                                35                                40

tca atc cgt gta tta cta gaa tca gtg tta cgt cag gaa gat gat ttt 856
Ser Ile Arg Val Leu Leu Glu Ser Val Leu Arg Gln Glu Asp Asp Phe
45                                50                                55

gta att act gat gat cac att aaa caa tta gca gaa ttt ggc aaa aaa 904
Val Ile Thr Asp Asp His Ile Lys Gln Leu Ala Glu Phe Gly Lys Lys
60                                65                                70

ggg aac gaa ggt gaa gta cct ttc aaa cca tct cga gtt att tta caa 952
Gly Asn Glu Gly Glu Val Pro Phe Lys Pro Ser Arg Val Ile Leu Gln
75                                80                                85

gac ttc act ggt gta cca gca gta gtt gac tta gcg tct tta cgt aaa 1000
Asp Phe Thr Gly Val Pro Ala Val Val Asp Leu Ala Ser Leu Arg Lys
90                                95                                100                                105

gca atg aat gat gtt ggt ggg gat att aat aaa att aac cct gaa gta 1048
Ala Met Asn Asp Val Gly Gly Asp Ile Asn Lys Ile Asn Pro Glu Val
110                                115                                120

cca gtt gac tta gtt att gac cac tct gta caa gta gat agt tat gct 1096

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

61/123

Pro	Val	Asp	Leu	Val	Ile	Asp	His	Ser	Val	Gln	Val	Asp	Ser	Tyr	Ala	
			125					130					135			
aat	cca	gat	gca	tta	caa	cgt	aac	atg	aaa	tta	gaa	ttt	gaa	cgt	aac	1144
Asn	Pro	Asp	Ala	Leu	Gln	Arg	Asn	Met	Lys	Leu	Glu	Phe	Glu	Arg	Asn	
			140					145					150			
tat	gaa	cgt	tac	caa	ttc	tta	aac	tgg	gca	aca	aaa	gca	ttt	gat	aac	1192
Tyr	Glu	Arg	Tyr	Gln	Phe	Leu	Asn	Trp	Ala	Thr	Lys	Ala	Phe	Asp	Asn	
			155					160					165			
tat	aat	gca	gta	cca	cct	gct	aca	ggg	att	gtc	cac	caa	gta	aac	tta	1240
Tyr	Asn	Ala	Val	Pro	Pro	Ala	Thr	Gly	Ile	Val	His	Gln	Val	Asn	Leu	
						175				180					185	
gaa	tac	tta	gcg	aat	gtt	gta	cat	gtt	cgt	gac	gtt	gac	gga	gaa	caa	1288
Glu	Tyr	Leu	Ala	Asn	Val	Val	His	Val	Arg	Asp	Val	Asp	Gly	Glu	Gln	
				190					195					200		
act	gct	ttc	cca	gat	aca	tta	gtt	ggg	act	gac	tca	cat	act	aca	atg	1336
Thr	Ala	Phe	Pro	Asp	Thr	Leu	Val	Gly	Thr	Asp	Ser	His	Thr	Thr	Met	
			205					210					215			
att	aac	ggg	att	ggg	gta	tta	ggg	tgg	ggg	gtc	ggc	ggg	atc	gaa	gct	1384
Ile	Asn	Gly	Ile	Gly	Val	Leu	Gly	Trp	Gly	Val	Gly	Gly	Ile	Glu	Ala	
			220					225					230			
gaa	gca	ggg	atg	tta	gga	caa	cca	tca	tac	ttc	cca	att	cca	gaa	gtt	1432
Glu	Ala	Gly	Met	Leu	Gly	Gln	Pro	Ser	Tyr	Phe	Pro	Ile	Pro	Glu	Val	
			235				240					245				
att	ggg	gtt	aaa	tta	agt	aac	gaa	tta	cca	caa	ggg	tca	aca	gca	act	1480
Ile	Gly	Val	Lys	Leu	Ser	Asn	Glu	Leu	Pro	Gln	Gly	Ser	Thr	Ala	Thr	
					255					260					265	
gac	tta	gca	tta	cgt	gta	act	gaa	gag	tta	cgt	aaa	cgt	ggg	gta	gta	1528
Asp	Leu	Ala	Leu	Arg	Val	Thr	Glu	Glu	Leu	Arg	Lys	Arg	Gly	Val	Val	
				270					275					280		
ggg	aaa	ttc	gtt	gag	ttc	ttt	ggg	cct	ggg	gta	aca	aac	tta	cca	tta	1576
Gly	Lys	Phe	Val	Glu	Phe	Phe	Gly	Pro	Gly	Val	Thr	Asn	Leu	Pro	Leu	
			285					290					295			
gct	gac	cgt	gca	aca	att	gcg	aac	atg	gcg	cct	gaa	tat	ggg	gca	act	1624
Ala	Asp	Arg	Ala	Thr	Ile	Ala	Asn	Met	Ala	Pro	Glu	Tyr	Gly	Ala	Thr	
			300				305						310			
tgt	ggg	ttc	ttc	cca	gtt	gat	gaa	gaa	tca	ctt	aaa	tac	atg	aaa	tta	1672
Cys	Gly	Phe	Phe	Pro	Val	Asp	Glu	Glu	Ser	Leu	Lys	Tyr	Met	Lys	Leu	
			315				320				325					
act	ggg	cgt	aaa	gat	gat	cat	att	gca	cta	gta	aaa	gaa	tat	tta	caa	1720
Thr	Gly	Arg	Lys	Asp	Asp	His	Ile	Ala	Leu	Val	Lys	Glu	Tyr	Leu	Gln	
					335				340						345	
caa	aac	aac	atg	ttc	ttc	caa	gtt	gaa	aac	gaa	gat	cct	gaa	tat	act	1768
Gln	Asn	Asn	Met	Phe	Phe	Gln	Val	Glu	Asn	Glu	Asp	Pro	Glu	Tyr	Thr	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

62/123

				350					355				360				
gaa	gtg	att	gat	tta	gat	tta	tct	aca	gtt	caa	gct	tct	tta	tca	ggt		1816
Glu	Val	Ile	Asp	Leu	Asp	Leu	Ser	Thr	Val	Gln	Ala	Ser	Leu	Ser	Gly		
			365						370				375				
cca	aaa	cgt	cca	caa	gat	tta	atc	ttc	tta	agt	gac	atg	aaa	act	gaa		1864
Pro	Lys	Arg	Pro	Gln	Asp	Leu	Ile	Phe	Leu	Ser	Asp	Met	Lys	Thr	Glu		
			380						385				390				
ttc	gaa	aaa	tca	gtt	aca	gca	cca	gct	ggt	aac	caa	ggt	cac	ggt	tta		1912
Phe	Glu	Lys	Ser	Val	Thr	Ala	Pro	Ala	Gly	Asn	Gln	Gly	His	Gly	Leu		
			395						400				405				
gat	gaa	agt	gaa	ttt	gat	aag	aaa	gca	gaa	atc	aaa	ttt	aat	gat	ggt		1960
Asp	Glu	Ser	Glu	Phe	Asp	Lys	Lys	Ala	Glu	Ile	Lys	Phe	Asn	Asp	Gly		
410						415					420				425		
aga	act	tca	act	atg	aag	act	ggt	gat	gtt	gcg	att	gca	gcg	att	aca		2008
Arg	Thr	Ser	Thr	Met	Lys	Thr	Gly	Asp	Val	Ala	Ile	Ala	Ala	Ile	Thr		
				430					435						440		
tca	tgt	aca	aat	aca	tct	aac	cct	tac	gtt	atg	tta	ggt	gca	ggt	tta		2056
Ser	Cys	Thr	Asn	Thr	Ser	Asn	Pro	Tyr	Val	Met	Leu	Gly	Ala	Gly	Leu		
			445						450						455		
gta	gct	aaa	aaa	gca	att	gaa	aaa	ggc	tta	aaa	gta	cct	gat	tat	gta		2104
Val	Ala	Lys	Lys	Ala	Ile	Glu	Lys	Gly	Leu	Lys	Val	Pro	Asp	Tyr	Val		
			460						465						470		
aaa	act	tca	tta	gca	cca	ggt	tca	aaa	gtt	gtt	act	gga	tat	tta	aga		2152
Lys	Thr	Ser	Leu	Ala	Pro	Gly	Ser	Lys	Val	Val	Thr	Gly	Tyr	Leu	Arg		
			475						480						485		
gat	tca	ggt	tta	caa	gaa	tat	ctt	gat	gac	tta	ggt	ttc	aac	tta	gtt		2200
Asp	Ser	Gly	Leu	Gln	Glu	Tyr	Leu	Asp	Asp	Leu	Gly	Phe	Asn	Leu	Val		
490						495					500				505		
ggt	tat	ggt	tgt	aca	act	tgt	atc	ggt	aac	tca	ggt	cca	tta	tta	cct		2248
Gly	Tyr	Gly	Cys	Thr	Thr	Cys	Ile	Gly	Asn	Ser	Gly	Pro	Leu	Leu	Pro		
				510					515						520		
gaa	att	gaa	aaa	gca	gta	gct	gac	gaa	gat	tta	tta	gta	act	tct	gta		2296
Glu	Ile	Glu	Lys	Ala	Val	Ala	Asp	Glu	Asp	Leu	Leu	Val	Thr	Ser	Val		
			525						530						535		
ctt	tct	ggt	aac	cgt	aac	ttt	gaa	ggt	cgt	atc	cat	ccg	tta	gtt	aaa		2344
Leu	Ser	Gly	Asn	Arg	Asn	Phe	Glu	Gly	Arg	Ile	His	Pro	Leu	Val	Lys		
			540						545						550		
gct	aac	tac	tta	gct	tca	cca	caa	tta	gtt	gta	gct	tat	gca	tta	gct		2392
Ala	Asn	Tyr	Leu	Ala	Ser	Pro	Gln	Leu	Val	Val	Ala	Tyr	Ala	Leu	Ala		
			555						560						565		
gga	acg	gtt	gat	atc	gat	tta	cac	aat	gaa	cct	atc	ggt	aaa	ggt	aaa		2440
Gly	Thr	Val	Asp	Ile	Asp	Leu	His	Asn	Glu	Pro	Ile	Gly	Lys	Gly	Lys		
570						575					580				585		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

63/123

gat ggc gaa gat gta tac ctt aaa gat atc tgg cca agt atc aaa gaa	2488
Asp Gly Glu Asp Val Tyr Leu Lys Asp Ile Trp Pro Ser Ile Lys Glu	
590 595 600	
ggt gca gac act gtt gat agt gtc gta acg cca gaa tta ttc tta gaa	2536
Val Ala Asp Thr Val Asp Ser Val Val Thr Pro Glu Leu Phe Leu Glu	
605 610 615	
gaa tat gca aat gta tac gaa aat aat gaa atg tgg aat gaa atc gac	2584
Glu Tyr Ala Asn Val Tyr Glu Asn Asn Glu Met Trp Asn Glu Ile Asp	
620 625 630	
ggt act gac gca cca tta tat gat ttc gat cca aat tca act tat att	2632
Val Thr Asp Ala Pro Leu Tyr Asp Phe Asp Pro Asn Ser Thr Tyr Ile	
635 640 645	
caa aat cca tca ttc ttc caa ggt tta tct aaa gaa cca gga act att	2680
Gln Asn Pro Ser Phe Phe Gln Gly Leu Ser Lys Glu Pro Gly Thr Ile	
650 655 660 665	
gaa cca tta aaa gat tta cgt att atg ggt aaa ttt ggt gat tca gtt	2728
Glu Pro Leu Lys Asp Leu Arg Ile Met Gly Lys Phe Gly Asp Ser Val	
670 675 680	
aca act gac cac att tct cca gca ggt gcg atc ggt aaa gat aca cca	2776
Thr Thr Asp His Ile Ser Pro Ala Gly Ala Ile Gly Lys Asp Thr Pro	
685 690 695	
gca ggt aaa tat tta tta gac cat gat gtt cca att aga gaa ttt aac	2824
Ala Gly Lys Tyr Leu Leu Asp His Asp Val Pro Ile Arg Glu Phe Asn	
700 705 710	
tct tat ggt tca aga cgt ggt aac cat gaa gta atg gta cgt ggt act	2872
Ser Tyr Gly Ser Arg Arg Gly Asn His Glu Val Met Val Arg Gly Thr	
715 720 725	
ttc gct aat atc cgt att aaa aac caa tta gca cca ggc act gaa ggt	2920
Phe Ala Asn Ile Arg Ile Lys Asn Gln Leu Ala Pro Gly Thr Glu Gly	
730 735 740 745	
gga ttt aca aca tat tgg cct aca gaa gaa atc atg cct atc tat gat	2968
Gly Phe Thr Thr Tyr Trp Pro Thr Glu Glu Ile Met Pro Ile Tyr Asp	
750 755 760	
gca gct atg aga tac aaa gaa aat ggt act ggt tta gct gtt tta gct	3016
Ala Ala Met Arg Tyr Lys Glu Asn Gly Thr Gly Leu Ala Val Leu Ala	
765 770 775	
ggt aat gat tac ggt atg ggt tca tct cgt gac tgg gca gct aaa ggt	3064
Gly Asn Asp Tyr Gly Met Gly Ser Ser Arg Asp Trp Ala Ala Lys Gly	
780 785 790	
act aac tta tta ggt gtt aaa act gtt att gca caa agt tat gaa cgt	3112
Thr Asn Leu Leu Gly Val Lys Thr Val Ile Ala Gln Ser Tyr Glu Arg	
795 800 805	
atc cat cgt tca aac tta gta atg atg ggt gta tta cca tta caa ttt	3160

THIS PAGE BLANK (USPTO)

64/123

```

Ile His Arg Ser Asn Leu Val Met Met Gly Val Leu Pro Leu Gln Phe
810                      815                      820                      825
aaa caa ggt gag tca gct gat tct cta ggt tta gaa ggt aaa gaa gaa 3208
Lys Gln Gly Glu Ser Ala Asp Ser Leu Gly Leu Glu Gly Lys Glu Glu
                      830                      835                      840
att tct gta gat atc gat gaa aat gtt aaa cca cat gat tta gta act 3256
Ile Ser Val Asp Ile Asp Glu Asn Val Lys Pro His Asp Leu Val Thr
                      845                      850                      855
gtt cat gct aaa aaa gaa aac gga gaa gtt gtt gat ttt gaa gca atg 3304
Val His Ala Lys Lys Glu Asn Gly Glu Val Val Asp Phe Glu Ala Met
                      860                      865                      870
gtt cgt ttc gat tca tta gta gaa tta gat tat tat cgt cat ggt ggt 3352
Val Arg Phe Asp Ser Leu Val Glu Leu Asp Tyr Tyr Arg His Gly Gly
                      875                      880                      885
atc tta caa atg gta tta aga aac aaa tta gct caa taatcacaat 3398
Ile Leu Gln Met Val Leu Arg Asn Lys Leu Ala Gln
890                      895                      900
gtgacttttg acagtgctaa cgtttaggtt agcactgttt ttttatgcta aactatatat 3458
gtaatgttaa tagttaagga aggattggac ttaaatgatt tatagtttga ctgaaattga 3518
accaagatat caagagacag ataaaaatggg cgtgatttat catggcaatt atgcaacatg 3578
gtttgaagta gcgcgtacag attacattag aaaactagga tttagttatg ctgatatgga 3638
aaagcaaggg atcatttctc cagttacaga cttaaataatc aaatataaaa aatcaatttt 3698
ttatcctgaa aaagtaacca ttaaaacatg ggtggaaaaa tattcaagat tacgttctgt 3758
gtatagatat gaaattttta atgaacaggg agaacttgca actacaggtt atactgagtt 3818
aatttgtatg aaagctgata ccttttagacc aattagatta gatcggttatt tctcagattg 3878
gcatgaaacc tatagtaaag ttgaagctt 3907

```

<210> 28

<211> 901

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 28

```

Met Ala Ser Asn Phe Lys Glu Thr Ala Lys Lys Gln Phe Asp Leu Asn
  1                      5                      10                      15
Gly Gln Ser Tyr Thr Tyr Tyr Asp Leu Lys Ser Leu Glu Glu Gln Gly
                20                      25                      30
Leu Thr Lys Ile Ser Lys Leu Pro Tyr Ser Ile Arg Val Leu Leu Glu
                35                      40                      45
Ser Val Leu Arg Gln Glu Asp Asp Phe Val Ile Thr Asp Asp His Ile
                50                      55                      60
Lys Gln Leu Ala Glu Phe Gly Lys Lys Gly Asn Glu Gly Glu Val Pro
        65                      70                      75                      80

```

THIS PAGE BLANK (USF)

65/123

Phe	Lys	Pro	Ser	Arg	Val	Ile	Leu	Gln	Asp	Phe	Thr	Gly	Val	Pro	Ala	
				85					90					95		
Val	Val	Asp	Leu	Ala	Ser	Leu	Arg	Lys	Ala	Met	Asn	Asp	Val	Gly	Gly	
		100						105					110			
Asp	Ile	Asn	Lys	Ile	Asn	Pro	Glu	Val	Pro	Val	Asp	Leu	Val	Ile	Asp	
	115						120					125				
His	Ser	Val	Gln	Val	Asp	Ser	Tyr	Ala	Asn	Pro	Asp	Ala	Leu	Gln	Arg	
	130					135					140					
Asn	Met	Lys	Leu	Glu	Phe	Glu	Arg	Asn	Tyr	Glu	Arg	Tyr	Gln	Phe	Leu	
145				150						155					160	
Asn	Trp	Ala	Thr	Lys	Ala	Phe	Asp	Asn	Tyr	Asn	Ala	Val	Pro	Pro	Ala	
			165					170					175			
Thr	Gly	Ile	Val	His	Gln	Val	Asn	Leu	Glu	Tyr	Leu	Ala	Asn	Val	Val	
		180					185						190			
His	Val	Arg	Asp	Val	Asp	Gly	Glu	Gln	Thr	Ala	Phe	Pro	Asp	Thr	Leu	
	195					200						205				
Val	Gly	Thr	Asp	Ser	His	Thr	Thr	Met	Ile	Asn	Gly	Ile	Gly	Val	Leu	
	210					215					220					
Gly	Trp	Gly	Val	Gly	Gly	Ile	Glu	Ala	Glu	Ala	Gly	Met	Leu	Gly	Gln	
225				230					235						240	
Pro	Ser	Tyr	Phe	Pro	Ile	Pro	Glu	Val	Ile	Gly	Val	Lys	Leu	Ser	Asn	
			245					250					255			
Glu	Leu	Pro	Gln	Gly	Ser	Thr	Ala	Thr	Asp	Leu	Ala	Leu	Arg	Val	Thr	
		260					265						270			
Glu	Glu	Leu	Arg	Lys	Arg	Gly	Val	Val	Gly	Lys	Phe	Val	Glu	Phe	Phe	
	275					280						285				
Gly	Pro	Gly	Val	Thr	Asn	Leu	Pro	Leu	Ala	Asp	Arg	Ala	Thr	Ile	Ala	
	290				295					300						
Asn	Met	Ala	Pro	Glu	Tyr	Gly	Ala	Thr	Cys	Gly	Phe	Phe	Pro	Val	Asp	
305				310						315					320	
Glu	Glu	Ser	Leu	Lys	Tyr	Met	Lys	Leu	Thr	Gly	Arg	Lys	Asp	Asp	His	
			325					330					335			
Ile	Ala	Leu	Val	Lys	Glu	Tyr	Leu	Gln	Gln	Asn	Asn	Met	Phe	Phe	Gln	
		340					345						350			
Val	Glu	Asn	Glu	Asp	Pro	Glu	Tyr	Thr	Glu	Val	Ile	Asp	Leu	Asp	Leu	
	355					360						365				
Ser	Thr	Val	Gln	Ala	Ser	Leu	Ser	Gly	Pro	Lys	Arg	Pro	Gln	Asp	Leu	
	370					375					380					
Ile	Phe	Leu	Ser	Asp	Met	Lys	Thr	Glu	Phe	Glu	Lys	Ser	Val	Thr	Ala	
385				390					395						400	
Pro	Ala	Gly	Asn	Gln	Gly	His	Gly	Leu	Asp	Glu	Ser	Glu	Phe	Asp	Lys	
			405					410					415			
Lys	Ala	Glu	Ile	Lys	Phe	Asn	Asp	Gly	Arg	Thr	Ser	Thr	Met	Lys	Thr	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

66/123

										420						425						430		
Gly	Asp	Val	Ala	Ile	Ala	Ala	Ile	Thr	Ser	Cys	Thr	Asn	Thr	Ser	Asn									
										435			440			445								
Pro	Tyr	Val	Met	Leu	Gly	Ala	Gly	Leu	Val	Ala	Lys	Lys	Ala	Ile	Glu									
										450			455			460								
Lys	Gly	Leu	Lys	Val	Pro	Asp	Tyr	Val	Lys	Thr	Ser	Leu	Ala	Pro	Gly									
										465			470			475			480					
Ser	Lys	Val	Val	Thr	Gly	Tyr	Leu	Arg	Asp	Ser	Gly	Leu	Gln	Glu	Tyr									
										485			490			495								
Leu	Asp	Asp	Leu	Gly	Phe	Asn	Leu	Val	Gly	Tyr	Gly	Cys	Thr	Thr	Cys									
										500			505			510								
Ile	Gly	Asn	Ser	Gly	Pro	Leu	Leu	Pro	Glu	Ile	Glu	Lys	Ala	Val	Ala									
										515			520			525								
Asp	Glu	Asp	Leu	Leu	Val	Thr	Ser	Val	Leu	Ser	Gly	Asn	Arg	Asn	Phe									
										530			535			540								
Glu	Gly	Arg	Ile	His	Pro	Leu	Val	Lys	Ala	Asn	Tyr	Leu	Ala	Ser	Pro									
										545			550			555			560					
Gln	Leu	Val	Val	Ala	Tyr	Ala	Leu	Ala	Gly	Thr	Val	Asp	Ile	Asp	Leu									
										565			570			575								
His	Asn	Glu	Pro	Ile	Gly	Lys	Gly	Lys	Asp	Gly	Glu	Asp	Val	Tyr	Leu									
										580			585			590								
Lys	Asp	Ile	Trp	Pro	Ser	Ile	Lys	Glu	Val	Ala	Asp	Thr	Val	Asp	Ser									
										595			600			605								
Val	Val	Thr	Pro	Glu	Leu	Phe	Leu	Glu	Glu	Tyr	Ala	Asn	Val	Tyr	Glu									
										610			615			620								
Asn	Asn	Glu	Met	Trp	Asn	Glu	Ile	Asp	Val	Thr	Asp	Ala	Pro	Leu	Tyr									
										625			630			635			640					
Asp	Phe	Asp	Pro	Asn	Ser	Thr	Tyr	Ile	Gln	Asn	Pro	Ser	Phe	Phe	Gln									
										645			650			655								
Gly	Leu	Ser	Lys	Glu	Pro	Gly	Thr	Ile	Glu	Pro	Leu	Lys	Asp	Leu	Arg									
										660			665			670								
Ile	Met	Gly	Lys	Phe	Gly	Asp	Ser	Val	Thr	Thr	Asp	His	Ile	Ser	Pro									
										675			680			685								
Ala	Gly	Ala	Ile	Gly	Lys	Asp	Thr	Pro	Ala	Gly	Lys	Tyr	Leu	Leu	Asp									
										690			695			700								
His	Asp	Val	Pro	Ile	Arg	Glu	Phe	Asn	Ser	Tyr	Gly	Ser	Arg	Arg	Gly									
										705			710			715			720					
Asn	His	Glu	Val	Met	Val	Arg	Gly	Thr	Phe	Ala	Asn	Ile	Arg	Ile	Lys									
										725			730			735								
Asn	Gln	Leu	Ala	Pro	Gly	Thr	Glu	Gly	Gly	Phe	Thr	Thr	Tyr	Trp	Pro									
										740			745			750								
Thr	Glu	Glu	Ile	Met	Pro	Ile	Tyr	Asp	Ala	Ala	Met	Arg	Tyr	Lys	Glu									
										755			760			765								

THIS PAGE BLANK (USPTO)

67/123

Asn Gly Thr Gly Leu Ala Val Leu Ala Gly Asn Asp Tyr Gly Met Gly
 770 775 780
 Ser Ser Arg Asp Trp Ala Ala Lys Gly Thr Asn Leu Leu Gly Val Lys
 785 790 795 800
 Thr Val Ile Ala Gln Ser Tyr Glu Arg Ile His Arg Ser Asn Leu Val
 805 810 815
 Met Met Gly Val Leu Pro Leu Gln Phe Lys Gln Gly Glu Ser Ala Asp
 820 825 830
 Ser Leu Gly Leu Glu Gly Lys Glu Glu Ile Ser Val Asp Ile Asp Glu
 835 840 845
 Asn Val Lys Pro His Asp Leu Val Thr Val His Ala Lys Lys Glu Asn
 850 855 860
 Gly Glu Val Val Asp Phe Glu Ala Met Val Arg Phe Asp Ser Leu Val
 865 870 875 880
 Glu Leu Asp Tyr Tyr Arg His Gly Gly Ile Leu Gln Met Val Leu Arg
 885 890 895
 Asn Lys Leu Ala Gln
 900

<210> 29

<211> 3006

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (328)..(2514)

<400> 29

gtgcagcagc aacccccccac cgccgaacca gccgcgcgac tggtgtggga gacacccggg 60
 ttctctctccc tgggtgaaca ggtgccacaa ccccgctcca acaggcacac ctaccactgg 120
 atgcgcgggg agagcagcat ggtcacacgc ctgcggcgctg ccctgggtgaa ggatcacggc 180
 ctggacagat cgcaggtggc attcatgggt tattggaggc agggagtggc catgaggggt 240
 tgatategct tccctgaggg tccgcaggcg tgcctcacc tgtattcttg atagttgaac 300
 aaaagagccc acataacaag gagactc atg gct aag atc atc tgg acc cgc acc 354
 Met Ala Lys Ile Ile Trp Thr Arg Thr
 1 5
 gac gaa gca ccg ctg ctc gcg acc tac tcg ctg aag ccg gtc gtc gag 402
 Asp Glu Ala Pro Leu Leu Ala Thr Tyr Ser Leu Lys Pro Val Val Glu
 10 15 20 25
 gct ttc gcc gcc acc gcg ggc atc gag gtg gag acc cgc gat atc tct 450
 Ala Phe Ala Ala Thr Ala Gly Ile Glu Val Glu Thr Arg Asp Ile Ser
 30 35 40

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ctc gcc ggt cgc atc ctc gca cag ttc gcg gac cag ctc ccc gag gag	498
Leu Ala Gly Arg Ile Leu Ala Gln Phe Ala Asp Gln Leu Pro Glu Glu	
45 50 55	
cag aag gtc tcc gac gcc ctc gcc gag ctc ggc gaa ctg gct aag acc	546
Gln Lys Val Ser Asp Ala Leu Ala Glu Leu Gly Glu Leu Ala Lys Thr	
60 65 70	
ccc gaa gcc aac atc atc aag ctt ccc aac atc tcc gca tcc gta ccg	594
Pro Glu Ala Asn Ile Ile Lys Leu Pro Asn Ile Ser Ala Ser Val Pro	
75 80 85	
cag ctc aag gct gcc gta aag gaa ctg cag gaa cag ggc tac gac ctg	642
Gln Leu Lys Ala Ala Val Lys Glu Leu Gln Glu Gln Gly Tyr Asp Leu	
90 95 100 105	
ccc gag tac gag gat gcc aag gac cgc tac gcc gct gtc atc ggc tcc	690
Pro Glu Tyr Glu Asp Ala Lys Asp Arg Tyr Ala Ala Val Ile Gly Ser	
110 115 120	
aac gtc aac ccg gtc ctg cgc gag ggc aac tcc gac cgc cgc gca ccg	738
Asn Val Asn Pro Val Leu Arg Glu Gly Asn Ser Asp Arg Arg Ala Pro	
125 130 135	
gtg gcc gtg aag aac ttc gtg aag aag ttc ccc cac cgc atg ggc gag	786
Val Ala Val Lys Asn Phe Val Lys Lys Phe Pro His Arg Met Gly Glu	
140 145 150	
tgg tcc gcc gac tcc aag acc aac gtt gcc acc atg ggt gcc gac gac	834
Trp Ser Ala Asp Ser Lys Thr Asn Val Ala Thr Met Gly Ala Asp Asp	
155 160 165	
ttc cgc agc aat gag aag tcc gtg atc atg gac gag gcc gac acc gtg	882
Phe Arg Ser Asn Glu Lys Ser Val Ile Met Asp Glu Ala Asp Thr Val	
170 175 180 185	
gtg atc aag cat gtc gcc gcc gac ggc acc gag acc gtg ctc aag gac	930
Val Ile Lys His Val Ala Ala Asp Gly Thr Glu Thr Val Leu Lys Asp	
190 195 200	
agc ctc ccc ctg ctc aag ggt gag gtc atc gac ggc acc ttc atc tcc	978
Ser Leu Pro Leu Leu Lys Gly Glu Val Ile Asp Gly Thr Phe Ile Ser	
205 210 215	
gcc aag gca ctg gac gcc ttc ctg ctc gac cag gtc aaa cgc gcc aag	1026
Ala Lys Ala Leu Asp Ala Phe Leu Leu Asp Gln Val Lys Arg Ala Lys	
220 225 230	
gag gag ggc atc ctc ttc tcc gcc cac atg aag gcc acc atg atg aag	1074
Glu Glu Gly Ile Leu Phe Ser Ala His Met Lys Ala Thr Met Met Lys	
235 240 245	
gtc tcc gac ccg atc atc ttc ggc cac atc gtc cgc gcc tac ttc gcc	1122
Val Ser Asp Pro Ile Ile Phe Gly His Ile Val Arg Ala Tyr Phe Ala	
250 255 260 265	
gat gtc tac gca cag tac ggt gag cag ctg ctc gcc gcc ggc ctc aac	1170

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Asp	Val	Tyr	Ala	Gln	Tyr	Gly	Glu	Gln	Leu	Leu	Ala	Ala	Gly	Leu	Asn	
				270					275					280		
ggt	gag	aac	ggt	ctc	gcc	gcc	atc	tac	gcc	ggc	ctg	gac	aag	ctg	gac	1218
Gly	Glu	Asn	Gly	Leu	Ala	Ala	Ile	Tyr	Ala	Gly	Leu	Asp	Lys	Leu	Asp	
			285					290					295			
aac	ggt	gcc	gag	atc	aag	gca	gcc	ttc	gac	aag	ggc	ctg	gaa	gag	ggc	1266
Asn	Gly	Ala	Glu	Ile	Lys	Ala	Ala	Phe	Asp	Lys	Gly	Leu	Glu	Glu	Gly	
		300					305					310				
ccc	gac	ctg	gcc	atg	gtg	aac	tcc	gcc	aag	ggc	atc	acc	aac	ctg	cat	1314
Pro	Asp	Leu	Ala	Met	Val	Asn	Ser	Ala	Lys	Gly	Ile	Thr	Asn	Leu	His	
		315				320					325					
gtg	ccc	tcc	gat	gtc	atc	atc	gac	gcc	tcc	atg	ccc	gcc	atg	atc	cgc	1362
Val	Pro	Ser	Asp	Val	Ile	Ile	Asp	Ala	Ser	Met	Pro	Ala	Met	Ile	Arg	
330					335					340					345	
acc	tcc	ggc	aag	atg	tgg	aac	aag	gac	gac	cag	acc	cag	gat	gcc	ctg	1410
Thr	Ser	Gly	Lys	Met	Trp	Asn	Lys	Asp	Asp	Gln	Thr	Gln	Asp	Ala	Leu	
			350					355						360		
gct	gtc	atc	ccg	gac	tcc	tcc	tac	gcc	ggt	gtc	tac	cag	acc	gtc	atc	1458
Ala	Val	Ile	Pro	Asp	Ser	Ser	Tyr	Ala	Gly	Val	Tyr	Gln	Thr	Val	Ile	
			365					370					375			
gag	gac	tgc	cgc	aag	aat	ggc	gcc	ttc	gat	ccg	acc	acc	atg	ggc	acc	1506
Glu	Asp	Cys	Arg	Lys	Asn	Gly	Ala	Phe	Asp	Pro	Thr	Thr	Met	Gly	Thr	
		380				385						390				
gtc	ccc	aac	gtc	ggt	ctg	atg	gca	cag	aag	gcc	gag	gag	tac	ggc	tcc	1554
Val	Pro	Asn	Val	Gly	Leu	Met	Ala	Gln	Lys	Ala	Glu	Glu	Tyr	Gly	Ser	
		395				400					405					
cac	gac	aag	acc	ttc	cgt	atc	gag	gcc	gac	ggc	aag	gta	cag	gtc	gtc	1602
His	Asp	Lys	Thr	Phe	Arg	Ile	Glu	Ala	Asp	Gly	Lys	Val	Gln	Val	Val	
410					415					420				425		
gcc	tcc	aac	ggt	gat	gtc	ctc	atc	gag	cac	gac	gtg	gag	aag	ggc	gac	1650
Ala	Ser	Asn	Gly	Asp	Val	Leu	Ile	Glu	His	Asp	Val	Glu	Lys	Gly	Asp	
			430					435				440				
atc	tgg	cgc	gcc	tgc	cag	acc	aag	gac	gcc	ccg	atc	cag	gac	tgg	gtc	1698
Ile	Trp	Arg	Ala	Cys	Gln	Thr	Lys	Asp	Ala	Pro	Ile	Gln	Asp	Trp	Val	
			445					450					455			
aag	ctg	gct	gtc	aac	cgc	gca	cgt	ctc	tcc	ggc	atg	ccc	gct	gtg	ttc	1746
Lys	Leu	Ala	Val	Asn	Arg	Ala	Arg	Leu	Ser	Gly	Met	Pro	Ala	Val	Phe	
		460					465					470				
tgg	ctg	gat	ccc	gcc	cgc	gca	cac	gac	cgc	aac	ctg	acc	aca	ctg	gtg	1794
Trp	Leu	Asp	Pro	Ala	Arg	Ala	His	Asp	Arg	Asn	Leu	Thr	Thr	Leu	Val	
		475				480					485					
gag	aag	tac	ctg	gca	gac	cac	gac	acc	gag	ggc	ctg	gac	atc	cag	atc	1842
Glu	Lys	Tyr	Leu	Ala	Asp	His	Asp	Thr	Glu	Gly	Leu	Asp	Ile	Gln	Ile	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

70/123

490					495					500					505				
ctc	tcc	ccc	gtc	gag	gcc	acc	cag	cac	gcc	atc	gac	cgc	atc	cgc	cgc	1890			
Leu	Ser	Pro	Val	Glu	Ala	Thr	Gln	His	Ala	Ile	Asp	Arg	Ile	Arg	Arg				
				510					515					520					
ggc	gag	gac	acc	atc	tcc	gtc	acc	ggt	aac	gtc	ctg	cgt	gac	tac	aac	1938			
Gly	Glu	Asp	Thr	Ile	Ser	Val	Thr	Gly	Asn	Val	Leu	Arg	Asp	Tyr	Asn				
				525					530					535					
acc	gac	ctc	ttc	ccg	atc	ctc	gag	ctg	ggc	acc	tcc	gcc	aag	atg	ctc	1986			
Thr	Asp	Leu	Phe	Pro	Ile	Leu	Glu	Leu	Gly	Thr	Ser	Ala	Lys	Met	Leu				
				540					545					550					
tcc	gtc	gtg	cca	ctg	atg	gcc	ggc	ggt	gga	ctc	ttc	gag	acc	ggt	gcc	2034			
Ser	Val	Val	Pro	Leu	Met	Ala	Gly	Gly	Gly	Leu	Phe	Glu	Thr	Gly	Ala				
				555					560					565					
ggt	ggc	tcc	gcc	ccg	aag	cac	gtc	cag	cag	gtc	atc	gag	gaa	aac	cac	2082			
Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Lys	His	Val	Gln	Gln	Val	Ile	Glu	Glu	Asn	His				
				570					575					580					
ctg	cgc	tgg	gat	tcc	ctc	ggt	gag	ttc	ctg	gcc	ctg	gcc	gag	tcc	ttc	2130			
Leu	Arg	Trp	Asp	Ser	Leu	Gly	Glu	Phe	Leu	Ala	Leu	Ala	Glu	Ser	Phe				
				590					595					600					
cgc	cac	gag	ctc	aac	acc	cgc	aac	aac	acc	aag	gcc	ggt	gtc	ctc	gcc	2178			
Arg	His	Glu	Leu	Asn	Thr	Arg	Asn	Asn	Thr	Lys	Ala	Gly	Val	Leu	Ala				
				605					610					615					
gat	gcc	ctg	gac	cgt	gcg	acc	gag	aag	ctc	ctc	aac	gag	gag	aag	tcc	2226			
Asp	Ala	Leu	Asp	Arg	Ala	Thr	Glu	Lys	Leu	Leu	Asn	Glu	Glu	Lys	Ser				
				620					625					630					
ccg	tcc	cgc	aag	gtc	ggc	gag	atc	gac	aac	cgt	ggt	tcc	cac	ttc	tgg	2274			
Pro	Ser	Arg	Lys	Val	Gly	Glu	Ile	Asp	Asn	Arg	Gly	Ser	His	Phe	Trp				
				635					640					645					
ctg	gcc	acc	tac	tgg	gcc	gat	gaa	ctg	gcc	aac	cag	acc	gag	gac	gcc	2322			
Leu	Ala	Thr	Tyr	Trp	Ala	Asp	Glu	Leu	Ala	Asn	Gln	Thr	Glu	Asp	Ala				
				650					655					660					
gag	ctg	gct	gag	acc	ttc	gcc	cct	gtc	gcc	gag	gcc	ctg	aac	aac	cag	2370			
Glu	Leu	Ala	Glu	Thr	Phe	Ala	Pro	Val	Ala	Glu	Ala	Leu	Asn	Asn	Gln				
				670					675					680					
gct	gcc	gac	atc	gac	gca	gca	ctc	atc	ggt	gag	cag	ggc	aag	cct	gtc	2418			
Ala	Ala	Asp	Ile	Asp	Ala	Ala	Leu	Ile	Gly	Glu	Gln	Gly	Lys	Pro	Val				
				685					690					695					
gac	ctg	ggt	ggc	tac	tac	gca	ccc	tcc	gat	gag	aag	acc	tcc	gcg	atc	2466			
Asp	Leu	Gly	Gly	Tyr	Tyr	Ala	Pro	Ser	Asp	Glu	Lys	Thr	Ser	Ala	Ile				
				700					705					710					
atg	cgc	ccg	gtg	gcc	gca	ttc	aac	gag	atc	atc	gac	tcc	ctg	aag	aag	2514			
Met	Arg	Pro	Val	Ala	Ala	Phe	Asn	Glu	Ile	Ile	Asp	Ser	Leu	Lys	Lys				
				715					720					725					

THIS PAGE BLANK (USPTO)

```

taaccccttc tceggagccg acagccgacg gccacgtccc cccgcccacg ggggatcgtg 2574
gccgtcggcc gtttctggca ctggagtga cacttcggtg ataatggtga gatgaacagc 2634
ccccgtgtcc ccgccatcct gtccgccgtt tccgccgtgg gtctgatcgc tgcgctgggc 2694
acccccgttg ccgtcgaga caccatcacc gcggacaccg accgggaaac ctgcgtggcc 2754
agccagaatg acaactccag cgtgatcagg ttctgggatg acctggagge cgatgtccgt 2814
gagcagcgcc tgaccgaact ggatgcacag gaccccgccc tcaagaacga catcgaggcc 2874
ttcatcgccg aggaccgggt agcccccctc gcagccgate tccagagacg gctggatgca 2934
aatgacgcg gtgagggcct ggccatgctg ctacctgaat cccgcaccga ccccgaggtg 2994
gtggacctgc ag                                     3006

```

<210> 30

<211> 729

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 30

```

Met Ala Lys Ile Ile Trp Thr Arg Thr Asp Glu Ala Pro Leu Leu Ala
  1             5             10             15
Thr Tyr Ser Leu Lys Pro Val Val Glu Ala Phe Ala Ala Thr Ala Gly
             20             25             30
Ile Glu Val Glu Thr Arg Asp Ile Ser Leu Ala Gly Arg Ile Leu Ala
             35             40             45
Gln Phe Ala Asp Gln Leu Pro Glu Glu Gln Lys Val Ser Asp Ala Leu
             50             55             60
Ala Glu Leu Gly Glu Leu Ala Lys Thr Pro Glu Ala Asn Ile Ile Lys
             65             70             75             80
Leu Pro Asn Ile Ser Ala Ser Val Pro Gln Leu Lys Ala Ala Val Lys
             85             90             95
Glu Leu Gln Glu Gln Gly Tyr Asp Leu Pro Glu Tyr Glu Asp Ala Lys
             100            105            110
Asp Arg Tyr Ala Ala Val Ile Gly Ser Asn Val Asn Pro Val Leu Arg
             115            120            125
Glu Gly Asn Ser Asp Arg Arg Ala Pro Val Ala Val Lys Asn Phe Val
             130            135            140
Lys Lys Phe Pro His Arg Met Gly Glu Trp Ser Ala Asp Ser Lys Thr
             145            150            155            160
Asn Val Ala Thr Met Gly Ala Asp Asp Phe Arg Ser Asn Glu Lys Ser
             165            170            175
Val Ile Met Asp Glu Ala Asp Thr Val Val Ile Lys His Val Ala Ala
             180            185            190
Asp Gly Thr Glu Thr Val Leu Lys Asp Ser Leu Pro Leu Leu Lys Gly
             195            200            205
Glu Val Ile Asp Gly Thr Phe Ile Ser Ala Lys Ala Leu Asp Ala Phe

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

72/123

210	215	220
Leu Leu Asp Gln Val	Lys Arg Ala Lys Glu	Glu Gly Ile Leu Phe Ser
225	230	235
Ala His Met Lys Ala	Thr Met Met Lys Val	Ser Asp Pro Ile Ile Phe
245	250	255
Gly His Ile Val Arg	Ala Tyr Phe Ala Asp	Val Tyr Ala Gln Tyr Gly
260	265	270
Glu Gln Leu Leu Ala	Ala Gly Leu Asn Gly	Glu Asn Gly Leu Ala Ala
275	280	285
Ile Tyr Ala Gly Leu	Asp Lys Leu Asp Asn	Gly Ala Glu Ile Lys Ala
290	295	300
Ala Phe Asp Lys Gly	Leu Glu Glu Gly Pro	Asp Leu Ala Met Val Asn
305	310	315
Ser Ala Lys Gly Ile	Thr Asn Leu His Val	Pro Ser Asp Val Ile Ile
325	330	335
Asp Ala Ser Met Pro	Ala Met Ile Arg Thr	Ser Gly Lys Met Trp Asn
340	345	350
Lys Asp Asp Gln Thr	Gln Asp Ala Leu Ala	Val Ile Pro Asp Ser Ser
355	360	365
Tyr Ala Gly Val Tyr	Gln Thr Val Ile Glu	Asp Cys Arg Lys Asn Gly
370	375	380
Ala Phe Asp Pro Thr	Thr Met Gly Thr Val	Pro Asn Val Gly Leu Met
385	390	395
Ala Gln Lys Ala Glu	Glu Tyr Gly Ser His	Asp Lys Thr Phe Arg Ile
405	410	415
Glu Ala Asp Gly Lys	Val Gln Val Val Ala	Ser Asn Gly Asp Val Leu
420	425	430
Ile Glu His Asp Val	Glu Lys Gly Asp Ile	Trp Arg Ala Cys Gln Thr
435	440	445
Lys Asp Ala Pro Ile	Gln Asp Trp Val Lys	Leu Ala Val Asn Arg Ala
450	455	460
Arg Leu Ser Gly Met	Pro Ala Val Phe Trp	Leu Asp Pro Ala Arg Ala
465	470	475
His Asp Arg Asn Leu	Thr Thr Leu Val Glu	Lys Tyr Leu Ala Asp His
485	490	495
Asp Thr Glu Gly Leu	Asp Ile Gln Ile Leu	Ser Pro Val Glu Ala Thr
500	505	510
Gln His Ala Ile Asp	Arg Ile Arg Arg Gly	Glu Asp Thr Ile Ser Val
515	520	525
Thr Gly Asn Val Leu	Arg Asp Tyr Asn Thr	Asp Leu Phe Pro Ile Leu
530	535	540
Glu Leu Gly Thr Ser	Ala Lys Met Leu Ser	Val Val Pro Leu Met Ala
545	550	555
		560

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Gly	Gly	Gly	Leu	Phe	Glu	Thr	Gly	Ala	Gly	Gly	Ser	Ala	Pro	Lys	His			
				565									570				575	
Val	Gln	Gln	Val	Ile	Glu	Glu	Asn	His	Leu	Arg	Trp	Asp	Ser	Leu	Gly			
				580									585				590	
Glu	Phe	Leu	Ala	Leu	Ala	Glu	Ser	Phe	Arg	His	Glu	Leu	Asn	Thr	Arg			
				595									600				605	
Asn	Asn	Thr	Lys	Ala	Gly	Val	Leu	Ala	Asp	Ala	Leu	Asp	Arg	Ala	Thr			
				610									615				620	
Glu	Lys	Leu	Leu	Asn	Glu	Glu	Lys	Ser	Pro	Ser	Arg	Lys	Val	Gly	Glu			
625					630									635				640
Ile	Asp	Asn	Arg	Gly	Ser	His	Phe	Trp	Leu	Ala	Thr	Tyr	Trp	Ala	Asp			
				645									650				655	
Glu	Leu	Ala	Asn	Gln	Thr	Glu	Asp	Ala	Glu	Leu	Ala	Glu	Thr	Phe	Ala			
				660									665				670	
Pro	Val	Ala	Glu	Ala	Leu	Asn	Asn	Gln	Ala	Ala	Asp	Ile	Asp	Ala	Ala			
				675									680				685	
Leu	Ile	Gly	Glu	Gln	Gly	Lys	Pro	Val	Asp	Leu	Gly	Gly	Tyr	Tyr	Ala			
				690									695				700	
Pro	Ser	Asp	Glu	Lys	Thr	Ser	Ala	Ile	Met	Arg	Pro	Val	Ala	Ala	Phe			
705					710									715				720
Asn	Glu	Ile	Ile	Asp	Ser	Leu	Lys	Lys										
				725														

```
<210> 31
<211> 2322
<212> DNA
<213> Corynebacterium thermoaminogenes
```

```
<220>  
<221> CDS  
<222> (806)..(2212)
```

<400> 31						
ggtacccccca	cgtaccctag	gccatcacag	caattttttac	atcggatatt	ttaggtgtgc	60
tcataacgtc	cttatgaatt	tcgcagttat	tagttattta	aatagagaat	caaactccga	120
cctagcctct	gccgatgcta	aaagtcagct	gaccccttgg	ggcgcttcat	ttgaaactgc	180
gaccaagctc	atgaatgcgc	gaaagcattt	ccattataag	ggtaagctgt	aagaatagtg	240
ggagaaaatg	ttcagtcgtg	ttctaactca	cttgagaaat	tccatttttc	tgggcttctc	300
tcaaatagat	taagtggccc	gtatgctgga	tttctagaat	atttagaage	gcgccaaactc	360
atgattatgt	attgtataag	cctcaaagac	cgaatagatt	actaacattt	aagtggacca	420
gagcgttaga	agctttgtag	agtgtcatt	ccttgtctgac	ggcaagggtt	tcctaccatg	480
agatagatcg	gcagatagtt	ggtttgtaaa	aattttttaag	gacggtcgc	aatgtcaatt	540
cttgaacaga	tcattcttct	catcaacacc	atcttgggtt	atggctctgca	cgctggttct	600

THIS PAGE BLANK (USPTO)

74/123

```

tccgcttcca gcaacctttc tcacacgata ggcctgttct aggcctaatt ggtaataagg 660
ctgtgtaaca gtcgcccgcg tgattgtgtc tttttaggcg cccgcgcggg cgattttcgg 720
ttttcatctt ttttaaattg agtttggaag atcaagtgcc cccggatgca cgacaatgct 780
atgccgaaca cgtattgttg aaate gtg act gaa cat tat gac gta gta gta 832
                               Val Thr Glu His Tyr Asp Val Val Val
                               1                               5
ctc gga gct ggc ccc ggt ggc tat gtc tcc gcc atc cgc gcc gcg cag 880
Leu Gly Ala Gly Pro Gly Gly Tyr Val Ser Ala Ile Arg Ala Ala Gln
10                               15                               20                               25
ctc ggt aag aaa gtt gcg gtt atc gag aag cag tac tgg gga ggt gtc 928
Leu Gly Lys Lys Val Ala Val Ile Glu Lys Gln Tyr Trp Gly Gly Val
                               30                               35                               40
tgc ctg aat gtg ggt tgt atc cca tct aag gcg ttg atc aag aac gct 976
Cys Leu Asn Val Gly Cys Ile Pro Ser Lys Ala Leu Ile Lys Asn Ala
                               45                               50                               55
gag atc gcc cac atc ttc aac cat gag/aag aag acc ttc ggc atc aac 1024
Glu Ile Ala His Ile Phe Asn His Glu Lys Lys Thr Phe Gly Ile Asn
                               60                               65                               70
ggc gag gtc acc ttc aac tac gag gat gcc cac aag cgt tcc cgt ggt 1072
Gly Glu Val Thr Phe Asn Tyr Glu Asp Ala His Lys Arg Ser Arg Gly
                               75                               80                               85
gtc tcc gac aag atc gtc ggc ggt gtt cac tac ttg atg aag aag aac 1120
Val Ser Asp Lys Ile Val Gly Gly Val His Tyr Leu Met Lys Lys Asn
90                               95                               100                               105
aag atc acc gag atc gac ggt ttc ggc acc ttc aag gat gcc aag acc 1168
Lys Ile Thr Glu Ile Asp Gly Phe Gly Thr Phe Lys Asp Ala Lys Thr
                               110                               115                               120
atc gag gtg acc gat ggt aag gat gcc ggc aag acc gtc acc ttc gat 1216
Ile Glu Val Thr Asp Gly Lys Asp Ala Gly Lys Thr Val Thr Phe Asp
                               125                               130                               135
gac tgc atc atc gcc acc ggt tcc gtg gtc aac tcc ctc cgt ggt gtt 1264
Asp Cys Ile Ile Ala Thr Gly Ser Val Val Asn Ser Leu Arg Gly Val
                               140                               145                               150
gag ttc tcc gag aac gtg gtc tcc tac gag gag cag atc ctc aac ccg 1312
Glu Phe Ser Glu Asn Val Val Ser Tyr Glu Glu Gln Ile Leu Asn Pro
155                               160                               165
gtg gcg cct aag aag atg gtc atc gtc ggt ggc ggc gcc atc ggt atg 1360
Val Ala Pro Lys Lys Met Val Ile Val Gly Gly Gly Ala Ile Gly Met
170                               175                               180                               185
gaa ttc gcc tac gtt ctg ggc aac tac ggt gtg gac gta acc ctc atc 1408
Glu Phe Ala Tyr Val Leu Gly Asn Tyr Gly Val Asp Val Thr Leu Ile
                               190                               195                               200
gag ttc atg gac cgc gtt ctg ccg aac gag gat cca gag gtg tcc aag 1456

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

75/123

Glu	Phe	Met	Asp	Arg	Val	Leu	Pro	Asn	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Ser	Lys	
			205					210					215			
gtt	atc	gcc	aag	gcc	tac	aag	aag	atg	ggc	atc	aag	ctc	ctc	ccg	ggc	1504
Val	Ile	Ala	Lys	Ala	Tyr	Lys	Lys	Met	Gly	Ile	Lys	Leu	Leu	Pro	Gly	
		220					225					230				
cac	gca	acc	acc	gcg	gtg	cgc	gac	aat	ggc	gat	tcc	gtt	gag	gtc	gat	1552
His	Ala	Thr	Thr	Ala	Val	Arg	Asp	Asn	Gly	Asp	Ser	Val	Glu	Val	Asp	
		235				240					245					
tac	cag	aag	aag	ggc	tcg	gac	aag	acc	gag	acc	atc	acc	gtc	gac	cgt	1600
Tyr	Gln	Lys	Lys	Gly	Ser	Asp	Lys	Thr	Glu	Thr	Ile	Thr	Val	Asp	Arg	
250					255				260						265	
gtt	ctt	atc	tcc	gtc	ggc	ttc	cgc	cca	cgc	gtc	gag	ggc	ttc	ggc	ctg	1648
Val	Leu	Ile	Ser	Val	Gly	Phe	Arg	Pro	Arg	Val	Glu	Gly	Phe	Gly	Leu	
			270					275					280			
gag	aac	acc	ggc	gtc	aag	ctc	acc	gaa	cgc	ggt	gcc	atc	gac	att	gat	1696
Glu	Asn	Thr	Gly	Val	Lys	Leu	Thr	Glu	Arg	Gly	Ala	Ile	Asp	Ile	Asp	
		285						290				295				
gag	cat	atg	cgc	acc	aac	gtc	gac	ggc	atc	tac	gcc	atc	ggt	gac	gtc	1744
Glu	His	Met	Arg	Thr	Asn	Val	Asp	Gly	Ile	Tyr	Ala	Ile	Gly	Asp	Val	
		300				305					310					
acc	gcc	aag	ctg	cag	ctg	gca	cac	gtc	gcc	gag	gca	cag	ggc	att	gtc	1792
Thr	Ala	Lys	Leu	Gln	Leu	Ala	His	Val	Ala	Glu	Ala	Gln	Gly	Ile	Val	
		315				320					325					
gcc	gcc	gag	aca	ctc	gcc	ggc	gca	gaa	acc	cag	acc	ctg	ggc	gac	tac	1840
Ala	Ala	Glu	Thr	Leu	Ala	Gly	Ala	Glu	Thr	Gln	Thr	Leu	Gly	Asp	Tyr	
330					335					340					345	
atg	atg	atg	ccg	cgt	gcc	acc	ttc	tgc	aac	cca	cag	gtt	gcc	tcc	ttc	1888
Met	Met	Met	Pro	Arg	Ala	Thr	Phe	Cys	Asn	Pro	Gln	Val	Ala	Ser	Phe	
			350					355				360				
ggt	tac	acc	gag	gag	cag	gcc	aag	gag	aag	tgg	ccg	gat	cga	gag	atc	1936
Gly	Tyr	Thr	Glu	Gln	Ala	Lys	Glu	Lys	Trp	Pro	Asp	Arg	Glu	Ile		
		365				370					375					
aag	gtg	tcc	tcc	ttc	ccg	ttc	tcc	gcg	aac	ggc	aag	gcc	gtc	ggc	ctg	1984
Lys	Val	Ser	Ser	Phe	Pro	Phe	Ser	Ala	Asn	Gly	Lys	Ala	Val	Gly	Leu	
		380				385					390					
gct	gag	acc	gat	ggt	ttc	gcc	aag	atc	gtc	gcc	gac	gct	gag	ttc	ggt	2032
Ala	Glu	Thr	Asp	Gly	Phe	Ala	Lys	Ile	Val	Ala	Asp	Ala	Glu	Phe	Gly	
		395				400					405					
gaa	ctg	ctg	ggt	ggc	cac	att	gtc	ggt	gcc	aac	gcc	tcc	gag	ctg	ctc	2080
Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	His	Ile	Val	Gly	Ala	Asn	Ala	Ser	Glu	Leu	Leu	
410					415				420						425	
aac	gag	ctg	gtg	ctg	gcc	cag	aac	tgg	gat	ctc	acc	acc	gag	gag	atc	2128
Asn	Glu	Leu	Val	Leu	Ala	Gln	Asn	Trp	Asp	Leu	Thr	Thr	Glu	Glu	Ile	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<210> 32
<211> 469
<212> PRT
<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 32															
Val	Thr	Glu	His	Tyr	Asp	Val	Val	Val	Leu	Gly	Ala	Gly	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Tyr	Val	Ser	Ala	Ile	Arg	Ala	Ala	Gln	Leu	Gly	Lys	Lys	Val	Ala	Val
			20					25					30		
Ile	Glu	Lys	Gln	Tyr	Trp	Gly	Gly	Val	Cys	Leu	Asn	Val	Gly	Cys	Ile
		35					40					45			
Pro	Ser	Lys	Ala	Leu	Ile	Lys	Asn	Ala	Glu	Ile	Ala	His	Ile	Phe	Asn
	50					55					60				
His	Glu	Lys	Lys	Thr	Phe	Gly	Ile	Asn	Gly	Glu	Val	Thr	Phe	Asn	Tyr
65					70					75					80
Glu	Asp	Ala	His	Lys	Arg	Ser	Arg	Gly	Val	Ser	Asp	Lys	Ile	Val	Gly
				85					90					95	
Gly	Val	His	Tyr	Leu	Met	Lys	Lys	Asn	Lys	Ile	Thr	Glu	Ile	Asp	Gly
			100					105					110		
Phe	Gly	Thr	Phe	Lys	Asp	Ala	Lys	Thr	Ile	Glu	Val	Thr	Asp	Gly	Lys
		115						120				125			
Asp	Ala	Gly	Lys	Thr	Val	Thr	Phe	Asp	Asp	Cys	Ile	Ile	Ala	Thr	Gly
	130					135				140					
Ser	Val	Val	Asn	Ser	Leu	Arg	Gly	Val	Glu	Phe	Ser	Glu	Asn	Val	Val
145					150					155					160
Ser	Tyr	Glu	Glu	Gln	Ile	Leu	Asn	Pro	Val	Ala	Pro	Lys	Lys	Met	Val
				165				170						175	
Ile	Val	Gly	Gly	Gly	Ala	Ile	Gly	Met	Glu	Phe	Ala	Tyr	Val	Leu	Gly
			180					185					190		
Asn	Tyr	Gly	Val	Asp	Val	Thr	Leu	Ile	Glu	Phe	Met	Asp	Arg	Val	Leu
		195					200				205				
Pro	Asn	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Ser	Lys	Val	Ile	Ala	Lys	Ala	Tyr	Lys

THIS PAGE BLANK (USPTO)

77/123

210		215		220
Lys Met Gly Ile Lys	Leu Leu Pro Gly His	Ala Thr Thr Ala Val Arg		
225	230	235		240
Asp Asn Gly Asp Ser	Val Glu Val Asp Tyr Gln	Lys Lys Gly Ser Asp		
	245	250		255
Lys Thr Glu Thr Ile	Thr Val Asp Arg Val Leu	Ile Ser Val Gly Phe		
	260	265		270
Arg Pro Arg Val Glu	Gly Phe Gly Leu Glu Asn	Thr Gly Val Lys Leu		
	275	280		285
Thr Glu Arg Gly Ala	Ile Asp Ile Asp Glu His	Met Arg Thr Asn Val		
	290	295		300
Asp Gly Ile Tyr Ala	Ile Gly Asp Val Thr Ala	Lys Leu Gln Leu Ala		
305	310	315		320
His Val Ala Glu Ala	Gln Gly Ile Val Ala	Ala Glu Thr Leu Ala	Gly	
	325	330		335
Ala Glu Thr Gln Thr	Leu Gly Asp Tyr Met	Met Met Pro Arg	Ala Thr	
	340	345		350
Phe Cys Asn Pro Gln	Val Ala Ser Phe Gly Tyr	Thr Glu Glu Gln Ala		
	355	360		365
Lys Glu Lys Trp Pro	Asp Arg Glu Ile Lys Val	Ser Ser Phe Pro Phe		
	370	375		380
Ser Ala Asn Gly Lys	Ala Val Gly Leu Ala Glu	Thr Asp Gly Phe Ala		
385	390	395		400
Lys Ile Val Ala Asp	Ala Glu Phe Gly Glu Leu	Leu Gly Gly His Ile		
	405	410		415
Val Gly Ala Asn Ala	Ser Glu Leu Leu Asn Glu	Leu Val Leu Ala Gln		
	420	425		430
Asn Trp Asp Leu Thr	Thr Glu Glu Ile Ser Arg	Ser Val His Ile His		
	435	440		445
Pro Thr Leu Ser Glu	Ala Val Lys Glu Ala Ala	His Gly Val Asn Gly		
	450	455		460
His Met Ile Asn Phe				
465				

<210> 33

<211> 4096

<212> DNA

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>

<221> CDS

<222> (250)..(3951)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<400> 33

ccggatcatc gtggttgacg ggggacgtat catcgaggat ggttcccacg atgaacttct 60
 gggagcgaat ggaacctacg caacaatgtg gcatttagta gggtgacagg atatttttagg 120
 aaagacttgt taccaaaagg tgctaatact ggggtgctag gtccccgcga ccggaaccag 180
 cgttacagtg gataaaataa agcccattta gaacctcaa caagcaagga aaagaggcga 240
 gtacctgcc gtg agc agc gct agt act ttc ggc cag aac gcg tgg ctg gtg 291

Val Ser Ser Ala Ser Thr Phe Gly Gln Asn Ala Trp Leu Val

1	5	10	
gat gag atg ttc cag cag ttc aag aag gac ccc cag tcc gtg gac aag	339		
Asp Glu Met Phe Gln Gln Phe Lys Lys Asp Pro Gln Ser Val Asp Lys			
15	20	25	30
gaa tgg aga gag ctc ttc gag tct cag ggg ggt ccc cag gct gaa aag	387		
Glu Trp Arg Glu Leu Phe Glu Ser Gln Gly Gly Pro Gln Ala Glu Lys			
35	40	45	
gct acc ccc gcc acc ccc gaa gcc aag aag gca gct tcg tcg cag tcc	435		
Ala Thr Pro Ala Thr Pro Glu Ala Lys Lys Ala Ala Ser Ser Gln Ser			
50	55	60	
tca act tcc gga cag tcc acc gcc aag gct gcc cct gcc gcc aag acc	483		
Ser Thr Ser Gly Gln Ser Thr Ala Lys Ala Ala Pro Ala Ala Lys Thr			
65	70	75	
gca ccg gcc tct gcg cca gcc aag gct gcc cct gtt aag caa aac cag	531		
Ala Pro Ala Ser Ala Pro Ala Lys Ala Ala Pro Val Lys Gln Asn Gln			
80	85	90	
gcg tcc aag cct gcc aag aag gcc aag gag tcc ccc ctg tcc aag cca	579		
Ala Ser Lys Pro Ala Lys Lys Ala Lys Glu Ser Pro Leu Ser Lys Pro			
95	100	105	110
gct gcc atg cct gag ccg gga acc acc cca ctc agg ggc atc ttc aag	627		
Ala Ala Met Pro Glu Pro Gly Thr Thr Pro Leu Arg Gly Ile Phe Lys			
115	120	125	
tcc atc gcc aag aac atg gac ctc tcc ctc gag gtg ccc acc gcc acc	675		
Ser Ile Ala Lys Asn Met Asp Leu Ser Leu Glu Val Pro Thr Ala Thr			
130	135	140	
tcc gtc cgc gac atg ccc gcg cgc ctc atg ttc gag aac cgc gcc atg	723		
Ser Val Arg Asp Met Pro Ala Arg Leu Met Phe Glu Asn Arg Ala Met			
145	150	155	
gtc aac gac cag ctc aag cgc acc cgt ggc ggc aag atc tcc ttc acc	771		
Val Asn Asp Gln Leu Lys Arg Thr Arg Gly Gly Lys Ile Ser Phe Thr			
160	165	170	
cac atc atc ggc tac gcc atg gtg aag gct gtc atg gca cac ccg gac	819		
His Ile Ile Gly Tyr Ala Met Val Lys Ala Val Met Ala His Pro Asp			
175	180	185	190
atg aac aac tcc tat gac atc gtc gac ggc aag ccg tcc ctg gtc gtc	867		
Met Asn Asn Ser Tyr Asp Ile Val Asp Gly Lys Pro Ser Leu Val Val			

THIS PAGE BLANK (USPTO)

				195				200				205				
cgc	gag	cac	atc	aac	ctc	ggc	ctg	gcc	atc	gac	ctc	ccc	cag	aag	gac	915
Pro	Glu	His	Ile	Asn	Leu	Gly	Leu	Ala	Ile	Asp	Leu	Pro	Gln	Lys	Asp	
210				215				220								
ggc	tcc	cgt	gcc	ctc	gtg	gtc	gcc	gcc	atc	aag	gaa	acc	gag	aag	atg	963
Gly	Ser	Arg	Ala	Leu	Val	Val	Ala	Ala	Ile	Lys	Glu	Thr	Glu	Lys	Met	
225				230				235								
acc	ttc	tcc	cag	ttc	ctg	gag	gcc	tat	gag	gac	gtt	gtg	gca	cgc	tcc	1011
Thr	Phe	Ser	Gln	Phe	Leu	Glu	Ala	Tyr	Glu	Asp	Val	Val	Ala	Arg	Ser	
240				245				250								
cgc	gtc	ggc	aag	ctc	acc	atg	gat	gac	tac	cag	ggt	gtc	acc	atc	tcc	1059
Arg	Val	Gly	Lys	Leu	Thr	Met	Asp	Asp	Tyr	Gln	Gly	Val	Thr	Ile	Ser	
255				260				265				270				
ttg	acc	aac	ccg	ggt	ggc	atc	ggt	acc	cgc	cac	tcc	atc	ccg	cgt	ctg	1107
Leu	Thr	Asn	Pro	Gly	Gly	Ile	Gly	Thr	Arg	His	Ser	Ile	Pro	Arg	Leu	
275				280				285								
acc	aag	ggc	cag	ggc	acc	atc	atc	ggt	gtc	ggt	tcc	atg	gac	tac	ccg	1155
Thr	Lys	Gly	Gln	Gly	Thr	Ile	Ile	Gly	Val	Gly	Ser	Met	Asp	Tyr	Pro	
290				295				300								
gcc	gag	ttc	cag	ggt	gcc	tcc	gag	gac	cgt	ctc	gcc	gag	ctc	ggt	gtg	1203
Ala	Glu	Phe	Gln	Gly	Ala	Ser	Glu	Asp	Arg	Leu	Ala	Glu	Leu	Gly	Val	
305				310				315								
ggc	aag	ctc	gtc	acc	atc	acc	tcc	acc	tac	gat	cac	cgc	gtc	atc	cag	1251
Gly	Lys	Leu	Val	Thr	Ile	Thr	Ser	Thr	Tyr	Asp	His	Arg	Val	Ile	Gln	
320				325				330								
ggc	gcg	gaa	tcc	ggt	gag	ttc	ctg	cgc	acc	atg	tcc	cag	ctg	ctc	gtg	1299
Gly	Ala	Glu	Ser	Gly	Glu	Phe	Leu	Arg	Thr	Met	Ser	Gln	Leu	Leu	Val	
335				340				345				350				
gac	gat	gcg	ttc	tgg	gat	cac	atc	ttc	gag	gag	atg	aac	gtt	ccc	tac	1347
Asp	Asp	Ala	Phe	Trp	Asp	His	Ile	Phe	Glu	Glu	Met	Asn	Val	Pro	Tyr	
355				360				365								
acc	ccg	atg	cgc	tgg	gca	cag	gac	ctg	ccc	aac	acc	ggt	gtg	gac	aag	1395
Thr	Pro	Met	Arg	Trp	Ala	Gln	Asp	Leu	Pro	Asn	Thr	Gly	Val	Asp	Lys	
370				375				380								
aac	acc	cgt	gtc	atg	cag	ctc	atc	gag	gcc	tac	cgc	tcc	cgc	ggt	cac	1443
Asn	Thr	Arg	Val	Met	Gln	Leu	Ile	Glu	Ala	Tyr	Arg	Ser	Arg	Gly	His	
385				390				395								
ctc	atc	gcc	gac	acc	aac	cca	ctg	ccc	tgg	gtc	cag	ccc	ggc	atg	ccc	1491
Leu	Ile	Ala	Asp	Thr	Asn	Pro	Leu	Pro	Trp	Val	Gln	Pro	Gly	Met	Pro	
400				405				410								
gtc	ccg	gat	cac	cgt	gac	ctc	gac	atc	gag	acc	cac	ggc	ctg	acc	ctg	1539
Val	Pro	Asp	His	Arg	Asp	Leu	Asp	Ile	Glu	Thr	His	Gly	Leu			

THIS PAGE BLANK (USPTO)

80/123

tgg gat ctg gac cgt acc ttc cac gtc ggt ggt ttc ggt ggc aag gag	1587
Trp Asp Leu Asp Arg Thr Phe His Val Gly Gly Phe Gly Gly Lys Glu	
435 440 445	
acc atg acc ctg cgc gag gtg ctc agc cgc ctc cgc gcc gcc tac acc	1635
Thr Met Thr Leu Arg Glu Val Leu Ser Arg Leu Arg Ala Ala Tyr Thr	
450 455 460	
ctc aag gtc ggc tcc gag tac acc cac atc ctc gac cgc gat gag cgc	1683
Leu Lys Val Gly Ser Glu Tyr Thr His Ile Leu Asp Arg Asp Glu Arg	
465 470 475	
acc tgg ctg cag gac cgc ctc gag gcc ggt atg ccc aag ccc acc gcc	1731
Thr Trp Leu Gln Asp Arg Leu Glu Ala Gly Met Pro Lys Pro Thr Ala	
480 485 490	
gcc gag cag aag tac atc ctg cag aag ctc aac gcc gcc gag gca ttc	1779
Ala Glu Gln Lys Tyr Ile Leu Gln Lys Leu Asn Ala Ala Glu Ala Phe	
495 500 505 510	
gag aac ttc ctg cag acc aag tac gtc ggc cag aag cgt ttc tcc ctc	1827
Glu Asn Phe Leu Gln Thr Lys Tyr Val Gly Gln Lys Arg Phe Ser Leu	
515 520 525	
gag ggt gcc gag tca ctg atc ccg ctg atg gac tcc gcc atc gac acc	1875
Glu Gly Ala Glu Ser Leu Ile Pro Leu Met Asp Ser Ala Ile Asp Thr	
530 535 540	
gcc gca ggc cag ggc ctt gac gag gtc gtc atc ggc atg ccc cac cgt	1923
Ala Ala Gly Gln Gly Leu Asp Glu Val Val Ile Gly Met Pro His Arg	
545 550 555	
ggt cgc ctc aac gtg ctg ttc aac atc gtc ggc aag cca ctg gcc tcg	1971
Gly Arg Leu Asn Val Leu Phe Asn Ile Val Gly Lys Pro Leu Ala Ser	
560 565 570	
atc ttc aac gag ttc gag ggc cag atg gag cag ggc cag atc ggt ggc	2019
Ile Phe Asn Glu Phe Glu Gly Gln Met Glu Gln Gly Gln Ile Gly Gly	
575 580 585 590	
tcc ggt gac gtg aag tac cac ctc ggt tcc gag ggc acc cac ctg cag	2067
Ser Gly Asp Val Lys Tyr His Leu Gly Ser Glu Gly Thr His Leu Gln	
595 600 605	
atg ttc ggc gac ggc gag atc aag gtc tcc ctc acc gcc aac ccc tcc	2115
Met Phe Gly Asp Gly Glu Ile Lys Val Ser Leu Thr Ala Asn Pro Ser	
610 615 620	
cac ctc gag gcc gtc aac ccg gtc gtg gag ggc atc gtc cgc gcc aag	2163
His Leu Glu Ala Val Asn Pro Val Val Glu Gly Ile Val Arg Ala Lys	
625 630 635	
cag gac atc ctg gac aag ggc ccg gac ggc tac acc gtc gtc ccg ctg	2211
Gln Asp Ile Leu Asp Lys Gly Pro Asp Gly Tyr Thr Val Val Pro Leu	
640 645 650	
ctg ctc cac ggt gac gcc gcc ttc gcc ggc ctg ggc atc gtg ccc gag	2259

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Leu	Leu	His	Gly	Asp	Ala	Ala	Phe	Ala	Gly	Leu	Gly	Ile	Val	Pro	Glu	
655					660					665					670	
acc	atc	aac	ctc	gca	gcc	ctg	cgt	ggt	tac	gat	gtc	ggt	ggc	acc	atc	2307
Thr	Ile	Asn	Leu	Ala	Ala	Leu	Arg	Gly	Tyr	Asp	Val	Gly	Gly	Thr	Ile	
				675				680						685		
cac	atc	gtg	gtc	aac	aac	cag	atc	ggc	ttc	acc	acc	acc	ccg	gac	tcc	2355
His	Ile	Val	Val	Asn	Asn	Gln	Ile	Gly	Phe	Thr	Thr	Thr	Pro	Asp	Ser	
			690					695					700			
age	cgt	tcc	atg	cac	tac	gcc	acc	gac	tgc	gcc	aag	gcc	ttc	ggt	tgc	2403
Ser	Arg	Ser	Met	His	Tyr	Ala	Thr	Asp	Cys	Ala	Lys	Ala	Phe	Gly	Cys	
	705						710					715				
ccg	gtg	ttc	cac	gtc	aac	ggt	gac	gac	ccc	gag	gct	gtg	gtc	tgg	gtc	2451
Pro	Val	Phe	His	Val	Asn	Gly	Asp	Asp	Pro	Glu	Ala	Val	Val	Trp	Val	
	720					725				730						
ggc	cag	ctg	gcc	acc	gag	tac	cgt	cgc	cgc	ttc	ggc	aag	gat	gtc	ttc	2499
Gly	Gln	Leu	Ala	Thr	Glu	Tyr	Arg	Arg	Arg	Phe	Gly	Lys	Asp	Val	Phe	
735					740					745				750		
atc	gac	ctc	atc	tgc	tac	cgc	ctg	cgc	ggc	cac	aac	gag	gct	gat	gac	2547
Ile	Asp	Leu	Ile	Cys	Tyr	Arg	Leu	Arg	Gly	His	Asn	Glu	Ala	Asp	Asp	
				755				760						765		
cca	tcc	atg	acc	cag	ccg	aag	atg	tac	gag	ctg	atc	acc	ggc	cgc	gac	2595
Pro	Ser	Met	Thr	Gln	Pro	Lys	Met	Tyr	Glu	Leu	Ile	Thr	Gly	Arg	Asp	
			770				775						780			
tcc	gtg	cgt	gcc	acc	tac	acc	gag	gac	ctc	ctc	ggc	cgt	ggt	gac	ctc	2643
Ser	Val	Arg	Ala	Thr	Tyr	Thr	Glu	Asp	Leu	Leu	Gly	Arg	Gly	Asp	Leu	
		785					790					795				
tcc	ccc	gag	gac	gcc	gag	gcc	gtt	gtc	cgc	gac	ttc	cac	gac	cag	atg	2691
Ser	Pro	Glu	Asp	Ala	Glu	Ala	Val	Val	Arg	Asp	Phe	His	Asp	Gln	Met	
	800					805					810					
gaa	tcc	gtg	ttc	aac	gag	gtc	aag	gaa	gcc	ggc	aag	aag	cag	cct	gat	2739
Glu	Ser	Val	Phe	Asn	Glu	Val	Lys	Glu	Ala	Gly	Lys	Lys	Gln	Pro	Asp	
815					820					825				830		
gag	cag	acc	ggc	atc	acc	ggt	tcc	cag	gaa	ctg	acc	cgt	ggc	ctg	gac	2787
Glu	Gln	Thr	Gly	Ile	Thr	Gly	Ser	Gln	Glu	Leu	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	
				835				840						845		
acc	aac	atc	acc	cgc	gag	gaa	ctg	gtc	gaa	ctc	ggc	cag	gcc	ttc	gtc	2835
Thr	Asn	Ile	Thr	Arg	Glu	Glu	Leu	Val	Glu	Leu	Gly	Gln	Ala	Phe	Val	
			850					855					860			
aac	acc	cca	gag	ggc	ttc	acc	tac	cac	cca	cgt	gtg	gca	ccg	gtg	gcc	2883
Asn	Thr	Pro	Glu	Gly	Phe	Thr	Tyr	His	Pro	Arg	Val	Ala	Pro	Val	Ala	
		865					870					875				
aag	aag	cgt	gcc	gag	tcc	gtc	acc	gag	ggt	ggc	atc	gac	tgg	gca	tgg	2931
Lys	Lys	Arg	Ala	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gly	Gly	Ile	Asp	Trp	Ala	Trp	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

82/123

880	885	890	
ggc gag ctc atc gcc ttc ggc tcc ctg gcc acc tcc ggc agg ctg gtc			2979
Gly Glu Leu Ile Ala Phe Gly Ser Leu Ala Thr Ser Gly Arg Leu Val			
895	900	905	910
cgc ctc gcc ggt gag gat tcc cgc cgt ggt acc ttc acc cag cgt cac			3027
Arg Leu Ala Gly Glu Asp Ser Arg Arg Gly Thr Phe Thr Gln Arg His			
915	920	925	
gcc gtg gcc atc gac ccg aac acc gcc gag gag ttc aac ccg ctc cac			3075
Ala Val Ala Ile Asp Pro Asn Thr Ala Glu Glu Phe Asn Pro Leu His			
930	935	940	
gag ctg gca cag gcc aag ggc ggc ggc aag ttc ctc gtc tac aac tcc			3123
Glu Leu Ala Gln Ala Lys Gly Gly Gly Lys Phe Leu Val Tyr Asn Ser			
945	950	955	
gcg ctg acc gag tac gcg ggt atg ggc ttc gaa tac ggc tac tcc gtg			3171
Ala Leu Thr Glu Tyr Ala Gly Met Gly Phe Glu Tyr Gly Tyr Ser Val			
960	965	970	
ggc aac ccg gac gcc gtg gtg tcc tgg gag gca cag ttc ggt gac ttc			3219
Gly Asn Pro Asp Ala Val Val Ser Trp Glu Ala Gln Phe Gly Asp Phe			
975	980	985	990
gcc aac ggt gca cag acc atc atc gat gag tac atc tcc tcc ggt gag			3267
Ala Asn Gly Ala Gln Thr Ile Ile Asp Glu Tyr Ile Ser Ser Gly Glu			
995	1000	1005	
gcc aag tgg ggc cag acc tcc tcg gtc atc ctg ctg ctg ccc cac ggt			3315
Ala Lys Trp Gly Gln Thr Ser Ser Val Ile Leu Leu Leu Pro His Gly			
1010	1015	1020	
tac gag ggc cag ggt ccg gac cac tcc tcc gca cgc atc gag cgt ttc			3363
Tyr Glu Gly Gln Gly Pro Asp His Ser Ser Ala Arg Ile Glu Arg Phe			
1025	1030	1035	
ctg cag ctg tgc gcc gag ggt tcc atg acc atc gcc cag ccg acc acc			3411
Leu Gln Leu Cys Ala Glu Gly Ser Met Thr Ile Ala Gln Pro Thr Thr			
1040	1045	1050	
ccg gcg aac tac ttc cac ctg ctg cgt cgt cac gca ctg ggc aag atg			3459
Pro Ala Asn Tyr Phe His Leu Leu Arg Arg His Ala Leu Gly Lys Met			
1055	1060	1065	1070
aag cgc ccg ctg gtc gtc ttc acc ccg aag tcc atg ctg cgc aac aag			3507
Lys Arg Pro Leu Val Val Phe Thr Pro Lys Ser Met Leu Arg Asn Lys			
1075	1080	1085	
gcc gcc acc tcc gct ccg gag gag ttc acc gag gtc acc cgc ttc aag			3555
Ala Ala Thr Ser Ala Pro Glu Glu Phe Thr Glu Val Thr Arg Phe Lys			
1090	1095	1100	
tcc gtg atc gac gat ccg aac gtg gcg gat gcc tcc aag gtg aag aag			3603
Ser Val Ile Asp Asp Pro Asn Val Ala Asp Ala Ser Lys Val Lys Lys			
1105	1110	1115	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

83/123

```

atc atg ctg tgc tcc ggc aag atc tac tac gaa ctg gcc aag cgc aag 3651
Ile Met Leu Cys Ser Gly Lys Ile Tyr Tyr Glu Leu Ala Lys Arg Lys
    1120                1125                1130
gag aag gac aac cgc gac gac atc gcg atc gtg cgc atc gag atg ctg 3699
Glu Lys Asp Asn Arg Asp Asp Ile Ala Ile Val Arg Ile Glu Met Leu
1135                1140                1145                1150
cac ccg atc ccg ttc aac cgt ctg cgc gac gcc ttc gac ggc tac ccc 3747
His Pro Ile Pro Phe Asn Arg Leu Arg Asp Ala Phe Asp Gly Tyr Pro
    1155                1160                1165
aac gcc gag gag atc ctg ttc gtt cag gac gag ccg gca aac cag ggt 3795
Asn Ala Glu Glu Ile Leu Phe Val Gln Asp Glu Pro Ala Asn Gln Gly
    1170                1175                1180
gcc tgg ccg ttc tac cag gag cac ctg ccc aac ctc atc gag ggc atg 3843
Ala Trp Pro Phe Tyr Gln Glu His Leu Pro Asn Leu Ile Glu Gly Met
    1185                1190                1195
ctc ccg atg cgt cgc atc tcg cgc cgt tcc cag tcc tcg act gcg acc 3891
Leu Pro Met Arg Arg Ile Ser Arg Arg Ser Gln Ser Ser Thr Ala Thr
    1200                1205                1210
ggt atc gcg aag gtg cac acc atc gag cag cag aag ctg ctg gat gat 3939
Gly Ile Ala Lys Val His Thr Ile Glu Gln Gln Lys Leu Leu Asp Asp
1215                1220                1225                1230
gcg ttc aac gca taaacgttaa tacagcggtt gataccttga accccgccgc 3991
Ala Phe Asn Ala
accctttaga tgcgggcggg gttttgcttt gcctgcatag gcgataatat tcatatacac 4051
ccatcacgtt taagtctgc atttgatcg tgcgagcate ccggt 4096

```

<210> 34

<211> 1234

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 34

```

Val Ser Ser Ala Ser Thr Phe Gly Gln Asn Ala Trp Leu Val Asp Glu
  1                5                10                15
Met Phe Gln Gln Phe Lys Lys Asp Pro Gln Ser Val Asp Lys Glu Trp
    20                25                30
Arg Glu Leu Phe Glu Ser Gln Gly Gly Pro Gln Ala Glu Lys Ala Thr
    35                40                45
Pro Ala Thr Pro Glu Ala Lys Lys Ala Ala Ser Ser Gln Ser Ser Thr
    50                55                60
Ser Gly Gln Ser Thr Ala Lys Ala Ala Pro Ala Ala Lys Thr Ala Pro
    65                70                75                80
Ala Ser Ala Pro Ala Lys Ala Ala Pro Val Lys Gln Asn Gln Ala Ser

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

84/123

85										90					95				
Lys	Pro	Ala	Lys	Lys	Ala	Lys	Glu	Ser	Pro	Leu	Ser	Lys	Pro	Ala	Ala				
			100					105					110						
Met	Pro	Glu	Pro	Gly	Thr	Thr	Pro	Leu	Arg	Gly	Ile	Phe	Lys	Ser	Ile				
		115					120					125							
Ala	Lys	Asn	Met	Asp	Leu	Ser	Leu	Glu	Val	Pro	Thr	Ala	Thr	Ser	Val				
		130				135					140								
Arg	Asp	Met	Pro	Ala	Arg	Leu	Met	Phe	Glu	Asn	Arg	Ala	Met	Val	Asn				
145					150				155						160				
Asp	Gln	Leu	Lys	Arg	Thr	Arg	Gly	Gly	Lys	Ile	Ser	Phe	Thr	His	Ile				
			165					170						175					
Ile	Gly	Tyr	Ala	Met	Val	Lys	Ala	Val	Met	Ala	His	Pro	Asp	Met	Asn				
		180						185					190						
Asn	Ser	Tyr	Asp	Ile	Val	Asp	Gly	Lys	Pro	Ser	Leu	Val	Val	Pro	Glu				
		195					200					205							
His	Ile	Asn	Leu	Gly	Leu	Ala	Ile	Asp	Leu	Pro	Gln	Lys	Asp	Gly	Ser				
	210				215						220								
Arg	Ala	Leu	Val	Val	Ala	Ala	Ile	Lys	Glu	Thr	Glu	Lys	Met	Thr	Phe				
225					230				235						240				
Ser	Gln	Phe	Leu	Glu	Ala	Tyr	Glu	Asp	Val	Val	Ala	Arg	Ser	Arg	Val				
			245					250						255					
Gly	Lys	Leu	Thr	Met	Asp	Asp	Tyr	Gln	Gly	Val	Thr	Ile	Ser	Leu	Thr				
		260					265						270						
Asn	Pro	Gly	Gly	Ile	Gly	Thr	Arg	His	Ser	Ile	Pro	Arg	Leu	Thr	Lys				
		275					280					285							
Gly	Gln	Gly	Thr	Ile	Ile	Gly	Val	Gly	Ser	Met	Asp	Tyr	Pro	Ala	Glu				
	290					295					300								
Phe	Gln	Gly	Ala	Ser	Glu	Asp	Arg	Leu	Ala	Glu	Leu	Gly	Val	Gly	Lys				
305					310				315						320				
Leu	Val	Thr	Ile	Thr	Ser	Thr	Tyr	Asp	His	Arg	Val	Ile	Gln	Gly	Ala				
			325					330						335					
Glu	Ser	Gly	Glu	Phe	Leu	Arg	Thr	Met	Ser	Gln	Leu	Leu	Val	Asp	Asp				
		340					345					350							
Ala	Phe	Trp	Asp	His	Ile	Phe	Glu	Glu	Met	Asn	Val	Pro	Tyr	Thr	Pro				
	355						360					365							
Met	Arg	Trp	Ala	Gln	Asp	Leu	Pro	Asn	Thr	Gly	Val	Asp	Lys	Asn	Thr				
	370					375					380								
Arg	Val	Met	Gln	Leu	Ile	Glu	Ala	Tyr	Arg	Ser	Arg	Gly	His	Leu	Ile				
385					390				395						400				
Ala	Asp	Thr	Asn	Pro	Leu	Pro	Trp	Val	Gln	Pro	Gly	Met	Pro	Val	Pro				
			405					410						415					
Asp	His	Arg	Asp	Leu	Asp	Ile	Glu	Thr	His	Gly	Leu	Thr	Leu	Trp	Asp				
			420					425						430					

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Leu	Asp	Arg	Thr	Phe	His	Val	Gly	Gly	Phe	Gly	Gly	Lys	Glu	Thr	Met
		435					440					445			
Thr	Leu	Arg	Glu	Val	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ala	Ala	Tyr	Thr	Leu	Lys
	450					455					460				
Val	Gly	Ser	Glu	Tyr	Thr	His	Ile	Leu	Asp	Arg	Asp	Glu	Arg	Thr	Trp
465					470					475					480
Leu	Gln	Asp	Arg	Leu	Glu	Ala	Gly	Met	Pro	Lys	Pro	Thr	Ala	Ala	Glu
				485					490						495
Gln	Lys	Tyr	Ile	Leu	Gln	Lys	Leu	Asn	Ala	Ala	Glu	Ala	Phe	Glu	Asn
			500				505						510		
Phe	Leu	Gln	Thr	Lys	Tyr	Val	Gly	Gln	Lys	Arg	Phe	Ser	Leu	Glu	Gly
		515					520					525			
Ala	Glu	Ser	Leu	Ile	Pro	Leu	Met	Asp	Ser	Ala	Ile	Asp	Thr	Ala	Ala
	530					535					540				
Gly	Gln	Gly	Leu	Asp	Glu	Val	Val	Ile	Gly	Met	Pro	His	Arg	Gly	Arg
545					550					555					560
Leu	Asn	Val	Leu	Phe	Asn	Ile	Val	Gly	Lys	Pro	Leu	Ala	Ser	Ile	Phe
				565					570						575
Asn	Glu	Phe	Glu	Gly	Gln	Met	Glu	Gln	Gly	Gln	Ile	Gly	Gly	Ser	Gly
			580					585					590		
Asp	Val	Lys	Tyr	His	Leu	Gly	Ser	Glu	Gly	Thr	His	Leu	Gln	Met	Phe
		595					600					605			
Gly	Asp	Gly	Glu	Ile	Lys	Val	Ser	Leu	Thr	Ala	Asn	Pro	Ser	His	Leu
	610					615					620				
Glu	Ala	Val	Asn	Pro	Val	Val	Glu	Gly	Ile	Val	Arg	Ala	Lys	Gln	Asp
625					630					635					640
Ile	Leu	Asp	Lys	Gly	Pro	Asp	Gly	Tyr	Thr	Val	Val	Pro	Leu	Leu	Leu
				645					650					655	
His	Gly	Asp	Ala	Ala	Phe	Ala	Gly	Leu	Gly	Ile	Val	Pro	Glu	Thr	Ile
			660					665					670		
Asn	Leu	Ala	Ala	Leu	Arg	Gly	Tyr	Asp	Val	Gly	Gly	Thr	Ile	His	Ile
		675					680					685			
Val	Val	Asn	Asn	Gln	Ile	Gly	Phe	Thr	Thr	Thr	Pro	Asp	Ser	Ser	Arg
	690					695					700				
Ser	Met	His	Tyr	Ala	Thr	Asp	Cys	Ala	Lys	Ala	Phe	Gly	Cys	Pro	Val
705					710					715					720
Phe	His	Val	Asn	Gly	Asp	Asp	Pro	Glu	Ala	Val	Val	Trp	Val	Gly	Gln
				725					730					735	
Leu	Ala	Thr	Glu	Tyr	Arg	Arg	Arg	Phe	Gly	Lys	Asp	Val	Phe	Ile	Asp
			740					745					750		
Leu	Ile	Cys	Tyr	Arg	Leu	Arg	Gly	His	Asn	Glu	Ala	Asp	Asp	Pro	Ser
		755					760					765			
Met	Thr	Gln	Pro	Lys	Met	Tyr	Glu	Leu	Ile	Thr	Gly	Arg	Asp	Ser	Val

THIS PAGE BLANK (USPTO)

86/123

770	775	780
Arg Ala Thr Tyr Thr	Glu Asp Leu Leu Gly	Arg Gly Asp Leu Ser Pro
785	790	795
Glu Asp Ala Glu Ala Val Val	Arg Asp Phe His Asp Gln Met Glu Ser	800
805	810	815
Val Phe Asn Glu Val Lys Glu Ala Gly Lys Lys Gln Pro Asp Glu Gln		
820	825	830
Thr Gly Ile Thr Gly Ser Gln Glu Leu Thr Arg Gly Leu Asp Thr Asn		
835	840	845
Ile Thr Arg Glu Glu Leu Val Glu Leu Gly Gln Ala Phe Val Asn Thr		
850	855	860
Pro Glu Gly Phe Thr Tyr His Pro Arg Val Ala Pro Val Ala Lys Lys		
865	870	875
Arg Ala Glu Ser Val Thr Glu Gly Gly Ile Asp Trp Ala Trp Gly Glu		
885	890	895
Leu Ile Ala Phe Gly Ser Leu Ala Thr Ser Gly Arg Leu Val Arg Leu		
900	905	910
Ala Gly Glu Asp Ser Arg Arg Gly Thr Phe Thr Gln Arg His Ala Val		
915	920	925
Ala Ile Asp Pro Asn Thr Ala Glu Glu Phe Asn Pro Leu His Glu Leu		
930	935	940
Ala Gln Ala Lys Gly Gly Gly Lys Phe Leu Val Tyr Asn Ser Ala Leu		
945	950	955
Thr Glu Tyr Ala Gly Met Gly Phe Glu Tyr Gly Tyr Ser Val Gly Asn		
965	970	975
Pro Asp Ala Val Val Ser Trp Glu Ala Gln Phe Gly Asp Phe Ala Asn		
980	985	990
Gly Ala Gln Thr Ile Ile Asp Glu Tyr Ile Ser Ser Gly Glu Ala Lys		
995	1000	1005
Trp Gly Gln Thr Ser Ser Val Ile Leu Leu Leu Pro His Gly Tyr Glu		
1010	1015	1020
Gly Gln Gly Pro Asp His Ser Ser Ala Arg Ile Glu Arg Phe Leu Gln		
1025	1030	1035
Leu Cys Ala Glu Gly Ser Met Thr Ile Ala Gln Pro Thr Thr Pro Ala		
1045	1050	1055
Asn Tyr Phe His Leu Leu Arg Arg His Ala Leu Gly Lys Met Lys Arg		
1060	1065	1070
Pro Leu Val Val Phe Thr Pro Lys Ser Met Leu Arg Asn Lys Ala Ala		
1075	1080	1085
Thr Ser Ala Pro Glu Glu Phe Thr Glu Val Thr Arg Phe Lys Ser Val		
1090	1095	1100
Ile Asp Asp Pro Asn Val Ala Asp Ala Ser Lys Val Lys Lys Ile Met		
1105	1110	1115
		1120

THIS PAGE BLANK (USPTO)

87/123

Leu Cys Ser Gly Lys Ile Tyr Tyr Glu Leu Ala Lys Arg Lys Glu Lys
 1125 1130 1135
 Asp Asn Arg Asp Asp Ile Ala Ile Val Arg Ile Glu Met Leu His Pro
 1140 1145 1150
 Ile Pro Phe Asn Arg Leu Arg Asp Ala Phe Asp Gly Tyr Pro Asn Ala
 1155 1160 1165
 Glu Glu Ile Leu Phe Val Gln Asp Glu Pro Ala Asn Gln Gly Ala Trp
 1170 1175 1180
 Pro Phe Tyr Gln Glu His Leu Pro Asn Leu Ile Glu Gly Met Leu Pro
 185 1190 1195 1200
 Met Arg Arg Ile Ser Arg Arg Ser Gln Ser Ser Thr Ala Thr Gly Ile
 1205 1210 1215
 Ala Lys Val His Thr Ile Glu Gln Gln Lys Leu Leu Asp Asp Ala Phe
 1220 1225 1230
 Asn Ala

<210> 35

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for aceA

<400> 35

cctctaccca gcgaactccg

20

<210> 36

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for aceA

<400> 36

ctgccttgaa ctcacggttc

20

<210> 37

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for accBC

<400> 37

catccacccc ggctacggct

20

<210> 38

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for accBC

<400> 38

cggtgactgg gtgttcacc

20

<210> 39

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for dtsR1

<400> 39

acggcccagc cctgaccgac

20

<210> 40

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for dtsR1

<400> 40

agcagcgccc atgacggcga

20

<210> 41

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for dtsR2

<400> 41

acggcccagc cctgaccgac

20

<210> 42

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for dtsR2

<400> 42

agcagcgccc atgacggcga

20

<210> 43

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for pfk

<400> 43

cgtcatccga ggaatcgccc

20

<210> 44

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for pfk

<400> 44

cgtggcggcc catgacctcc

21

<210> 45

<211> 17

<212> DNA

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for scrB

<220>

<221> UNSURE

<222> (3)

<223> n=a or g or c or t

<400> 45

ggncghytba aygaycc

17

<210> 46

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for scrB

<220>

<221> UNSURE

<222> (18)

<223> n=a or g or c or t

<400> 46

ggrcaytccc acatrtance

20

<210> 47

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for gluABCD

<400> 47

ccatccggat ccggcaagtc

20

<210> 48

<211> 20

<212> DNA

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for gluABCD

<400> 48

aatcccatct cgtgggtaac

20

<210> 49

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for pdhA

<400> 49

actgtgtcca tgggtcttgg ccc

23

<210> 50

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for pdhA

<400> 50

cgctggaatccgaacatcga

20

<210> 51

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for pc

<400> 51

ggcgcaacct acgacgttgc aatgcg

26

<210> 52

<211> 20

THIS PAGE BLANK (USPTO)

92/123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for pc

<400> 52

tggccgcctg ggatctcgtg

20

<210> 53

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for ppc

<400> 53

ggttcctgga ttggtggaga

20

<210> 54

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for ppc

<400> 54

ccgccatcct tgttgaatc

20

<210> 55

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for acn

<220>

<221> UNSURE

<222> (3,6,9)

<223> n=inosine

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<400> 55
gtnggnacng aytcsatac 20

<210> 56
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer for acn

<220>
<221> UNSURE
<222> (3,9,18)
<223> n=inosine

<400> 56
gcnggagana tgtgrtcngt 20

<210> 57
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer for icd

<400> 57
gacatttcac tcgctggacg 20

<210> 58
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer for icd

<400> 58
ccgtactctt cagccttctg 20

<210> 59

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for lpd

<400> 59

atcatcgcaa ccggttc

17

<210> 60

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for lpd

<400> 60

cgtcaccgat ggcgtaaat

19

<210> 61

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for odhA

<400> 61

acaccgtggt cgcctcaacg

20

<210> 62

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for odhA

<400> 62

tgctaaccg tcccacctgg

20

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<210> 63

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
screening PCR of lpd

<400> 63

tacgaggagc agatcctcaa

20

<210> 64

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
screening PCR of lpd

<400> 64

ttgacgccgg tggttctccag

20

<210> 65

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of acn

<400> 65

ggtgaagcta agtagttagc

20

<210> 66

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for

THIS PAGE BLANK (USPTO)

96/123

LA cloning of acn

<400> 66

agctactaaa cctgcacc

18

<210> 67

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of icd

<400> 67

ccgtactctt cagccttctg

67

<210> 68

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of icd

<400> 68

tcgtccttgt tccacatc

18

<210> 69

<211> 17

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of lpd

<400> 69

atcatcgcaa ccggttc

17

<210> 70

<211> 20

THIS PAGE BLANK (USPTO)

97/123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of lpd

<400> 70

tacgaggagc agatcctcaa

20

<210> 71

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of acn

<400> 71

gctaactact tagcttcacc

20

<210> 72

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of acn

<400> 72

gaaccaggaa ctattgaacc

20

<210> 73

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of icd

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<400> 73
tccgatgtca tcatcgac 18

<210> 74
<211> 18
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of icd

<400> 74
atgtggaaca aggacgac 18

<210> 75
<211> 35
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of odhA

<400> 75
gtacatattg tcgtagaac gcgtaatag actca 35

<210> 76
<211> 35
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: primer for
LA cloning of odhA

<400> 76
cgtagaacg cgtaatacga ctactatag ggaga 35

<210> 77
<211> 32
<212> DNA

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gdh gene

<400> 77

gcgcctgcag gtccgagggt gtgcgttcgg ca

32

<210> 78

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gdh gene

<400> 78

gcgcctgcag ccaccagga tgccctcaacc ag

32

<210> 79

<211> 1344

<212> DNA

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1341)

<400> 79

atg act gta gat gag cag gtc tcc aac tac tac gac atg ctg ctg aag 48

Met Thr Val Asp Glu Gln Val Ser Asn Tyr Tyr Asp Met Leu Leu Lys

1

5

10

15

cgc aac gcc ggg gaa cct gag ttc cac cag gct gtc gcg gag gtt ctc 96

Arg Asn Ala Gly Glu Pro Glu Phe His Gln Ala Val Ala Glu Val Leu

20

25

30

gaa tct ctg aag atc gtc ctg gag aag gac ccg cac tac gcc gac tac 144

Glu Ser Leu Lys Ile Val Leu Glu Lys Asp Pro His Tyr Ala Asp Tyr

35

40

45

ggc ctg atc cag cgt ctc tgc gaa ccg gaa cgc cag ctg atc ttc cgt 192

THIS PAGE BLANK (USPTO)

100/123

Gly	Leu	Ile	Gln	Arg	Leu	Cys	Glu	Pro	Glu	Arg	Gln	Leu	Ile	Phe	Arg	
50						55					60					
gtg	ccc	tgg	gtg	gat	gac	aac	ggg	cag	gtg	cac	gtc	aac	cgt	ggg	ttc	240
Val	Pro	Trp	Val	Asp	Asp	Asn	Gly	Gln	Val	His	Val	Asn	Arg	Gly	Phe	
65						70					75				80	
cgt	gtc	cag	ttc	aac	tcc	gca	ctc	ggc	cgg	tac	aag	ggg	ggg	ctg	cgt	288
Arg	Val	Gln	Phe	Asn	Ser	Ala	Leu	Gly	Pro	Tyr	Lys	Gly	Gly	Leu	Arg	
				85					90					95		
ttc	cac	ccc	tcc	gtc	aac	ctc	ggc	atc	gtc	aag	ttc	ctc	ggc	ttc	gag	336
Phe	His	Pro	Ser	Val	Asn	Leu	Gly	Ile	Val	Lys	Phe	Leu	Gly	Phe	Glu	
			100					105					110			
cag	atc	ttc	aag	aac	tcc	ctc	acc	ggg	ctg	cgg	atc	ggg	ggc	ggc	aag	384
Gln	Ile	Phe	Lys	Asn	Ser	Leu	Thr	Gly	Leu	Pro	Ile	Gly	Gly	Gly	Lys	
		115					120					125				
ggg	ggg	tcc	gac	ttc	gac	cgg	aag	ggc	aag	tcc	gag	ctg	gag	atc	atg	432
Gly	Gly	Ser	Asp	Phe	Asp	Pro	Lys	Gly	Lys	Ser	Glu	Leu	Glu	Ile	Met	
130						135					140					
cgc	ttc	tgc	cag	tcc	ttc	atg	acc	gag	ctg	cac	cgc	cac	atc	ggc	gag	480
Arg	Phe	Cys	Gln	Ser	Phe	Met	Thr	Glu	Leu	His	Arg	His	Ile	Gly	Glu	
145					150					155					160	
tac	cgg	gat	gtc	cgg	gcc	ggg	gac	atc	gga	gtc	ggg	ggc	cgc	gag	atc	528
Tyr	Arg	Asp	Val	Pro	Ala	Gly	Asp	Ile	Gly	Val	Gly	Gly	Arg	Glu	Ile	
			165					170					175			
ggg	tac	ctc	ttc	ggc	cac	tac	cgc	cgt	ctg	gcc	aac	cag	cac	gag	tcc	576
Gly	Tyr	Leu	Phe	Gly	His	Tyr	Arg	Arg	Leu	Ala	Asn	Gln	His	Glu	Ser	
		180					185					190				
ggg	gtg	ctc	acc	ggc	aag	ggc	ctg	acc	tgg	ggg	ggg	tcc	ctg	gtc	cgc	624
Gly	Val	Leu	Thr	Gly	Lys	Gly	Leu	Thr	Trp	Gly	Gly	Ser	Leu	Val	Arg	
		195				200					205					
acc	gag	gcc	acc	ggc	ttc	ggc	acc	gtc	tac	ttc	gtc	cag	gag	atg	atc	672
Thr	Glu	Ala	Thr	Gly	Phe	Gly	Thr	Val	Tyr	Phe	Val	Gln	Glu	Met	Ile	
210						215					220					
aag	gcg	gaa	ggg	gag	acc	ctc	gag	ggc	aag	aag	gtc	atc	gtc	tcc	ggg	720
Lys	Ala	Glu	Gly	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly	Lys	Lys	Val	Ile	Val	Ser	Gly	
225					230					235					240	
tcc	ggc	aac	gtg	gcc	acc	tac	gcc	atc	cag	aag	gtg	cag	gaa	ctg	ggg	768
Ser	Gly	Asn	Val	Ala	Thr	Tyr	Ala	Ile	Gln	Lys	Val	Gln	Glu	Leu	Gly	
			245					250					255			
gcg	gtt	gtg	gtc	ggc	ttc	tcc	gac	tcc	agc	ggc	tgg	gtc	tcc	acc	cgg	816
Ala	Val	Val	Val	Gly	Phe	Ser	Asp	Ser	Ser	Gly	Trp	Val	Ser	Thr	Pro	
		260					265					270				
aac	ggg	gtt	gac	gtg	gcc	aag	ctg	cgt	gag	atc	aag	gag	gtc	cgt	cgt	864
Asn	Gly	Val	Asp	Val	Ala	Lys	Leu	Arg	Glu	Ile	Lys	Glu	Val	Arg	Arg	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

101/123

275						280						285						
gca	cgc	gtg	tcc	tcc	tac	gcc	gac	gag	gtg	gag	ggt	gcg	gag	tac	cac	912		
Ala	Arg	Val	Ser	Ser	Tyr	Ala	Asp	Glu	Val	Glu	Gly	Ala	Glu	Tyr	His			
290						295						300						
acc	gac	ggc	tcc	atc	tgg	gat	ctg	acc	gcc	gac	atc	gcg	ctg	ccc	tgc	960		
Thr	Asp	Gly	Ser	Ile	Trp	Asp	Leu	Thr	Ala	Asp	Ile	Ala	Leu	Pro	Cys			
305						310						315						320
gcc	acc	cag	aac	gaa	ctg	gac	ggc	gac	aac	gcc	cgc	acc	ctc	gcg	gac	1008		
Ala	Thr	Gln	Asn	Glu	Leu	Asp	Gly	Asp	Asn	Ala	Arg	Thr	Leu	Ala	Asp			
325						330						335						
aac	ggc	tgc	cgc	ttc	gtg	gcg	gag	ggc	gcc	aac	atg	ccc	tcc	acc	ccc	1056		
Asn	Gly	Cys	Arg	Phe	Val	Ala	Glu	Gly	Ala	Asn	Met	Pro	Ser	Thr	Pro			
340						345						350						
gag	gcc	atc	gac	gtc	ttc	cgt	gag	cgt	ggt	gtt	ctc	ttc	ggg	ccg	ggc	1104		
Glu	Ala	Ile	Asp	Val	Phe	Arg	Glu	Arg	Gly	Val	Leu	Phe	Gly	Pro	Gly			
355						360						365						
aag	gct	gcc	aac	gcc	ggt	ggc	gtg	gcc	acc	tcc	gcc	ctg	gag	atg	cag	1152		
Lys	Ala	Ala	Asn	Ala	Gly	Gly	Val	Ala	Thr	Ser	Ala	Leu	Glu	Met	Gln			
370						375						380						
cag	aac	gcc	tcc	cgt	gat	tcc	tgg	agc	ttc	gag	tac	acc	gat	gag	cgt	1200		
Gln	Asn	Ala	Ser	Arg	Asp	Ser	Trp	Ser	Phe	Glu	Tyr	Thr	Asp	Glu	Arg			
385						390						395						400
ctc	cac	cgc	atc	atg	aag	aac	atc	ttc	aag	tcc	tgc	gcc	gat	acc	gcc	1248		
Leu	His	Arg	Ile	Met	Lys	Asn	Ile	Phe	Lys	Ser	Cys	Ala	Asp	Thr	Ala			
405						410						415						
aag	gag	tac	ggc	cac	gag	aag	aac	tac	gtg	gtc	ggt	gcg	aac	atc	gcc	1296		
Lys	Glu	Tyr	Gly	His	Glu	Lys	Asn	Tyr	Val	Val	Gly	Ala	Asn	Ile	Ala			
420						425						430						
gga	ttc	aag	aag	gtc	gct	gac	gcc	atg	ctc	gcc	cag	ggt	gtc	atc	taa	1344		
Gly	Phe	Lys	Lys	Val	Ala	Asp	Ala	Met	Leu	Ala	Gln	Gly	Val	Ile				
435						440						445						

<210> 80

<211> 447

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 80

Met	Thr	Val	Asp	Glu	Gln	Val	Ser	Asn	Tyr	Tyr	Asp	Met	Leu	Leu	Lys
1				5					10				15		
Arg	Asn	Ala	Gly	Glu	Pro	Glu	Phe	His	Gln	Ala	Val	Ala	Glu	Val	Leu
			20					25					30		
Glu	Ser	Leu	Lys	Ile	Val	Leu	Glu	Lys	Asp	Pro	His	Tyr	Ala	Asp	Tyr

THIS PAGE BLANK (USPTO)

102/123

35					40					45						
Gly	Leu	Ile	Gln	Arg	Leu	Cys	Glu	Pro	Glu	Arg	Gln	Leu	Ile	Phe	Arg	
50					55					60						
Val	Pro	Trp	Val	Asp	Asp	Asn	Gly	Gln	Val	His	Val	Asn	Arg	Gly	Phe	
65					70					75					80	
Arg	Val	Gln	Phe	Asn	Ser	Ala	Leu	Gly	Pro	Tyr	Lys	Gly	Gly	Leu	Arg	
85					90					95						
Phe	His	Pro	Ser	Val	Asn	Leu	Gly	Ile	Val	Lys	Phe	Leu	Gly	Phe	Glu	
100					105					110						
Gln	Ile	Phe	Lys	Asn	Ser	Leu	Thr	Gly	Leu	Pro	Ile	Gly	Gly	Gly	Lys	
115					120					125						
Gly	Gly	Ser	Asp	Phe	Asp	Pro	Lys	Gly	Lys	Ser	Glu	Leu	Glu	Ile	Met	
130					135					140						
Arg	Phe	Cys	Gln	Ser	Phe	Met	Thr	Glu	Leu	His	Arg	His	Ile	Gly	Glu	
145					150					155					160	
Tyr	Arg	Asp	Val	Pro	Ala	Gly	Asp	Ile	Gly	Val	Gly	Gly	Arg	Glu	Ile	
165					170					175						
Gly	Tyr	Leu	Phe	Gly	His	Tyr	Arg	Arg	Leu	Ala	Asn	Gln	His	Glu	Ser	
180					185					190						
Gly	Val	Leu	Thr	Gly	Lys	Gly	Leu	Thr	Trp	Gly	Gly	Ser	Leu	Val	Arg	
195					200					205						
Thr	Glu	Ala	Thr	Gly	Phe	Gly	Thr	Val	Tyr	Phe	Val	Gln	Glu	Met	Ile	
210					215					220						
Lys	Ala	Glu	Gly	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly	Lys	Lys	Val	Ile	Val	Ser	Gly	
225					230					235					240	
Ser	Gly	Asn	Val	Ala	Thr	Tyr	Ala	Ile	Gln	Lys	Val	Gln	Glu	Leu	Gly	
245					250					255						
Ala	Val	Val	Val	Gly	Phe	Ser	Asp	Ser	Ser	Gly	Trp	Val	Ser	Thr	Pro	
260					265					270						
Asn	Gly	Val	Asp	Val	Ala	Lys	Leu	Arg	Glu	Ile	Lys	Glu	Val	Arg	Arg	
275					280					285						
Ala	Arg	Val	Ser	Ser	Tyr	Ala	Asp	Glu	Val	Glu	Gly	Ala	Glu	Tyr	His	
290					295					300						
Thr	Asp	Gly	Ser	Ile	Trp	Asp	Leu	Thr	Ala	Asp	Ile	Ala	Leu	Pro	Cys	
305					310					315					320	
Ala	Thr	Gln	Asn	Glu	Leu	Asp	Gly	Asp	Asn	Ala	Arg	Thr	Leu	Ala	Asp	
325					330					335						
Asn	Gly	Cys	Arg	Phe	Val	Ala	Glu	Gly	Ala	Asn	Met	Pro	Ser	Thr	Pro	
340					345					350						
Glu	Ala	Ile	Asp	Val	Phe	Arg	Glu	Arg	Gly	Val	Leu	Phe	Gly	Pro	Gly	
355					360					365						
Lys	Ala	Ala	Asn	Ala	Gly	Gly	Val	Ala	Thr	Ser	Ala	Leu	Glu	Met	Gln	
370					375					380						

THIS PAGE BLANK (USPTO)

103/123

Gln	Asn	Ala	Ser	Arg	Asp	Ser	Trp	Ser	Phe	Glu	Tyr	Thr	Asp	Glu	Arg
385					390					395					400
Leu	His	Arg	Ile	Met	Lys	Asn	Ile	Phe	Lys	Ser	Cys	Ala	Asp	Thr	Ala
				405					410					415	
Lys	Glu	Tyr	Gly	His	Glu	Lys	Asn	Tyr	Val	Val	Gly	Ala	Asn	Ile	Ala
			420					425					430		
Gly	Phe	Lys	Lys	Val	Ala	Asp	Ala	Met	Leu	Ala	Gln	Gly	Val	Ile	
		435					440					445			

<210> 81

<211> 1344

<212> DNA

<213> Brevibacterium lactofermentum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1341)

<400> 81

atg	aca	gtt	gat	gag	cag	gtc	tct	aac	tat	tac	gac	atg	ctt	ctg	aag	48
Met	Thr	Val	Asp	Glu	Gln	Val	Ser	Asn	Tyr	Tyr	Asp	Met	Leu	Leu	Lys	
1				5				10					15			
cgc	aat	gct	ggc	gag	cct	gaa	ttt	cac	cag	gca	gtg	gca	gag	gtt	ttg	96
Arg	Asn	Ala	Gly	Glu	Pro	Glu	Phe	His	Gln	Ala	Val	Ala	Glu	Val	Leu	
			20					25					30			
gaa	tct	ttg	aag	atc	gtc	ctg	gaa	aag	gac	cct	cat	tac	gct	gat	tac	144
Glu	Ser	Leu	Lys	Ile	Val	Leu	Glu	Lys	Asp	Pro	His	Tyr	Ala	Asp	Tyr	
		35					40					45				
ggt	ctc	atc	cag	cgc	ctg	tgc	gag	cct	gag	cgt	cag	ctc	atc	ttc	cgt	192
Gly	Leu	Ile	Gln	Arg	Leu	Cys	Glu	Pro	Glu	Arg	Gln	Leu	Ile	Phe	Arg	
		50				55					60					
gtg	cct	tgg	gtt	gat	gac	cag	ggc	cag	gtc	cac	gtc	aac	cgt	ggt	ttc	240
Val	Pro	Trp	Val	Asp	Asp	Gln	Gly	Gln	Val	His	Val	Asn	Arg	Gly	Phe	
		65			70				75					80		
cgc	gtg	cag	ttc	aac	tct	gca	ctt	gga	cca	tac	aag	ggc	ggc	ctg	cgc	288
Arg	Val	Gln	Phe	Asn	Ser	Ala	Leu	Gly	Pro	Tyr	Lys	Gly	Gly	Leu	Arg	
			85					90						95		
ttc	cac	cca	tct	gta	aac	ctg	ggc	att	gtg	aag	ttc	ctg	ggc	ttt	gag	336
Phe	His	Pro	Ser	Val	Asn	Leu	Gly	Ile	Val	Lys	Phe	Leu	Gly	Phe	Glu	
			100					105					110			
cag	atc	ttt	aaa	aac	tcc	cta	acc	ggc	ctg	cca	atc	ggt	ggt	ggc	aag	384
Gln	Ile	Phe	Lys	Asn	Ser	Leu	Thr	Gly	Leu	Pro	Ile	Gly	Gly	Gly	Lys	
		115					120					125				

#11S PAGE BLANK (USPTO)

104/123

ggt gga tcc gac ttc gac cct aag ggc aag tcc gat ctg gaa atc atg	432
Gly Gly Ser Asp Phe Asp Pro Lys Gly Lys Ser Asp Leu Glu Ile Met	
130 135 140	
cgt ttc tgc cag tcc ttc atg acc gag ctg cac cgc cac atc ggt gag	480
Arg Phe Cys Gln Ser Phe Met Thr Glu Leu His Arg His Ile Gly Glu	
145 150 155 160	
tac cgc gac gtt cct gca ggt gac atc gga gtt ggt ggc cgc gag atc	528
Tyr Arg Asp Val Pro Ala Gly Asp Ile Gly Val Gly Gly Arg Glu Ile	
165 170 175	
ggt tac ctg ttt ggc cac tac cgt cgc atg gct aac cag cac gag tcc	576
Gly Tyr Leu Phe Gly His Tyr Arg Arg Met Ala Asn Gln His Glu Ser	
180 185 190	
ggc gtt ttg acc ggt aag ggc ctg acc tgg ggt gga tcc ctg gtc cgc	624
Gly Val Leu Thr Gly Lys Gly Leu Thr Trp Gly Gly Ser Leu Val Arg	
195 200 205	
acc gag gca act ggc tac ggc tgc gtt tac ttc gtg agt gaa atg atc	672
Thr Glu Ala Thr Gly Tyr Gly Cys Val Tyr Phe Val Ser Glu Met Ile	
210 215 220	
aag gct aag ggc gag agc atc agc ggc cag aag atc atc gtt tcc ggt	720
Lys Ala Lys Gly Glu Ser Ile Ser Gly Gln Lys Ile Ile Val Ser Gly	
225 230 235 240	
tcc ggc aac gta gca acc tac gcg att gaa aag gct cag gaa ctc ggc	768
Ser Gly Asn Val Ala Thr Tyr Ala Ile Glu Lys Ala Gln Glu Leu Gly	
245 250 255	
gca acc gtt att ggt ttc tcc gat tcc agc ggt tgg gtt cat acc cct	816
Ala Thr Val Ile Gly Phe Ser Asp Ser Ser Gly Trp Val His Thr Pro	
260 265 270	
aac ggc gtt gac gtg gct aag ctc cgc gaa atc aag gaa gtt cgc cgc	864
Asn Gly Val Asp Val Ala Lys Leu Arg Glu Ile Lys Glu Val Arg Arg	
275 280 285	
gca cgc gta tcc gtg tac gcc gac gaa att gaa ggc gca acc tac cac	912
Ala Arg Val Ser Val Tyr Ala Asp Glu Ile Glu Gly Ala Thr Tyr His	
290 295 300	
acc gac ggt tcc atc tgg gat ctc aag tgc gat atc gct ctt cct tgt	960
Thr Asp Gly Ser Ile Trp Asp Leu Lys Cys Asp Ile Ala Leu Pro Cys	
305 310 315 320	
gca act cag aac gag ctc aac ggc gag aac gct aag act ctt gca gac	1008
Ala Thr Gln Asn Glu Leu Asn Gly Glu Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp	
325 330 335	
aac ggc tgc cgt ttc gtt gct gaa ggc gcg aac atg cct tcc acc cct	1056
Asn Gly Cys Arg Phe Val Ala Glu Gly Ala Asn Met Pro Ser Thr Pro	
340 345 350	
gag gct gtt gag gtc ttc cgt gag cgc gac atc cgc ttc gga cca ggc	1104

THIS PAGE BLANK (USPTO)

105/123

Glu	Ala	Val	Glu	Val	Phe	Arg	Glu	Arg	Asp	Ile	Arg	Phe	Gly	Pro	Gly		
		355						360					365				
aag	gca	gct	aac	gct	ggt	ggc	gtt	gca	acc	tcc	gct	ctg	gag	atg	cag	1152	
Lys	Ala	Ala	Asn	Ala	Gly	Gly	Val	Ala	Thr	Ser	Ala	Leu	Glu	Met	Gln		
		370				375					380						
cag	aac	gct	tcg	cgc	gat	tcc	tgg	agc	ttc	gag	tac	acc	gac	gag	cgc	1200	
Gln	Asn	Ala	Ser	Arg	Asp	Ser	Trp	Ser	Phe	Glu	Tyr	Thr	Asp	Glu	Arg		
		385			390					395					400		
ctc	cag	gtg	atc	atg	aag	aac	atc	ttc	aag	acc	tgt	gca	gag	acc	gca	1248	
Leu	Gln	Val	Ile	Met	Lys	Asn	Ile	Phe	Lys	Thr	Cys	Ala	Glu	Thr	Ala		
			405						410						415		
gca	gag	tat	gga	cac	gag	aac	gat	tac	gtt	gtc	ggc	gct	aac	att	gct	1296	
Ala	Glu	Tyr	Gly	His	Glu	Asn	Asp	Tyr	Val	Val	Gly	Ala	Asn	Ile	Ala		
			420					425					430				
ggc	ttt	aag	aag	gta	gct	gac	gcg	atg	ctg	gca	cag	ggc	gtc	atc	taa	1344	
Gly	Phe	Lys	Lys	Val	Ala	Asp	Ala	Met	Leu	Ala	Gln	Gly	Val	Ile			
		435					440					445					

<210> 82

<211> 447

<212> PRT

<213> Brevibacterium lactofermentum

<400> 82

Met	Thr	Val	Asp	Glu	Gln	Val	Ser	Asn	Tyr	Tyr	Asp	Met	Leu	Leu	Lys		
1				5					10					15			
Arg	Asn	Ala	Gly	Glu	Pro	Glu	Phe	His	Gln	Ala	Val	Ala	Glu	Val	Leu		
		20						25					30				
Glu	Ser	Leu	Lys	Ile	Val	Leu	Glu	Lys	Asp	Pro	His	Tyr	Ala	Asp	Tyr		
		35					40					45					
Gly	Leu	Ile	Gln	Arg	Leu	Cys	Glu	Pro	Glu	Arg	Gln	Leu	Ile	Phe	Arg		
	50					55					60						
Val	Pro	Trp	Val	Asp	Asp	Gln	Gly	Gln	Val	His	Val	Asn	Arg	Gly	Phe		
	65			70					75						80		
Arg	Val	Gln	Phe	Asn	Ser	Ala	Leu	Gly	Pro	Tyr	Lys	Gly	Gly	Leu	Arg		
			85					90						95			
Phe	His	Pro	Ser	Val	Asn	Leu	Gly	Ile	Val	Lys	Phe	Leu	Gly	Phe	Glu		
		100					105						110				
Gln	Ile	Phe	Lys	Asn	Ser	Leu	Thr	Gly	Leu	Pro	Ile	Gly	Gly	Gly	Lys		
	115						120					125					
Gly	Gly	Ser	Asp	Phe	Asp	Pro	Lys	Gly	Lys	Ser	Asp	Leu	Glu	Ile	Met		
	130					135					140						
Arg	Phe	Cys	Gln	Ser	Phe	Met	Thr	Glu	Leu	His	Arg	His	Ile	Gly	Glu		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

106/123

145		150		155		160
Tyr Arg Asp Val Pro Ala Gly Asp Ile Gly Val Gly Gly Arg Glu Ile						
	165		170			175
Gly Tyr Leu Phe Gly His Tyr Arg Arg Met Ala Asn Gln His Glu Ser						
	180		185			190
Gly Val Leu Thr Gly Lys Gly Leu Thr Trp Gly Gly Ser Leu Val Arg						
	195		200			205
Thr Glu Ala Thr Gly Tyr Gly Cys Val Tyr Phe Val Ser Glu Met Ile						
	210		215			220
Lys Ala Lys Gly Glu Ser Ile Ser Gly Gln Lys Ile Ile Val Ser Gly						
225		230		235		240
Ser Gly Asn Val Ala Thr Tyr Ala Ile Glu Lys Ala Gln Glu Leu Gly						
	245		250			255
Ala Thr Val Ile Gly Phe Ser Asp Ser Ser Gly Trp Val His Thr Pro						
	260		265			270
Asn Gly Val Asp Val Ala Lys Leu Arg Glu Ile Lys Glu Val Arg Arg						
	275		280			285
Ala Arg Val Ser Val Tyr Ala Asp Glu Ile Glu Gly Ala Thr Tyr His						
	290		295			300
Thr Asp Gly Ser Ile Trp Asp Leu Lys Cys Asp Ile Ala Leu Pro Cys						
305		310		315		320
Ala Thr Gln Asn Glu Leu Asn Gly Glu Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp						
	325		330			335
Asn Gly Cys Arg Phe Val Ala Glu Gly Ala Asn Met Pro Ser Thr Pro						
	340		345			350
Glu Ala Val Glu Val Phe Arg Glu Arg Asp Ile Arg Phe Gly Pro Gly						
	355		360			365
Lys Ala Ala Asn Ala Gly Gly Val Ala Thr Ser Ala Leu Glu Met Gln						
	370		375			380
Gln Asn Ala Ser Arg Asp Ser Trp Ser Phe Glu Tyr Thr Asp Glu Arg						
385		390		395		400
Leu Gln Val Ile Met Lys Asn Ile Phe Lys Thr Cys Ala Glu Thr Ala						
	405		410			415
Ala Glu Tyr Gly His Glu Asn Asp Tyr Val Val Gly Ala Asn Ile Ala						
	420		425			430
Gly Phe Lys Lys Val Ala Asp Ala Met Leu Ala Gln Gly Val Ile						
	435		440			445

<210> 83

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

THIS PAGE BLANK (USPTO)

107/123

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<220>

<221> misc_feature

<222> (9)

<223> n=inosine

<400> 83

aagatcacnt acatcgaygg

20

<210> 84

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<400> 84

tagaagtcta cgttcgggta

20

<210> 85

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<400> 85

gtcgacaata gcctgaatct g

21

<210> 86

<211> 21

<212> DNA

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<400> 86

cgggtggaacc ggtgctgaca t

21

<210> 87

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<400> 87

gggtgggga attcggtcatg t

21

<210> 88

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<400> 88

tgtcgtagcc gcggtagcgc a

21

<210> 89

<211> 1293

<212> DNA

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1290)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

109/123

<400> 89

gtg gct tct gat aac aac aag gct gta ctg cac tac cct ggc ggc gaa	48
Val Ala Ser Asp Asn Asn Lys Ala Val Leu His Tyr Pro Gly Gly Glu	
1 5 10 15	
ttc gag atg ggc atc aag cag gcc acc gag ggt aac tcc ggt gtc atc	96
Phe Glu Met Gly Ile Lys Gln Ala Thr Glu Gly Asn Ser Gly Val Ile	
20 25 30	
ctg ggt aag atg ctg tcg gaa acc ggt ctg gtc acc ttc gac ccc ggt	144
Leu Gly Lys Met Leu Ser Glu Thr Gly Leu Val Thr Phe Asp Pro Gly	
35 40 45	
tat gtc agc acc ggt tcc acc gaa tcc aag atc acc tac atc gat ggt	192
Tyr Val Ser Thr Gly Ser Thr Glu Ser Lys Ile Thr Tyr Ile Asp Gly	
50 55 60	
gat gca ggc atc ctg cgc tac cgc ggc tac gac att gcg gat ctg gcc	240
Asp Ala Gly Ile Leu Arg Tyr Arg Gly Tyr Asp Ile Ala Asp Leu Ala	
65 70 75 80	
gaa aat gcc acc ttc aat gag gtc tcc tac ctc ctg atc aag ggt gag	288
Glu Asn Ala Thr Phe Asn Glu Val Ser Tyr Leu Leu Ile Lys Gly Glu	
85 90 95	
ctc ccg acc ccg gaa gag ctc cac aag ttc aac gac gag att cgt cac	336
Leu Pro Thr Pro Glu Glu Leu His Lys Phe Asn Asp Glu Ile Arg His	
100 105 110	
cac acc ctg ctg gac gag gac ttc aag tcc cag ttc aat gtc ttc cct	384
His Thr Leu Leu Asp Glu Asp Phe Lys Ser Gln Phe Asn Val Phe Pro	
115 120 125	
cgc gat gcc cac ccg atg gcc acc ctg gcc tcc tcg gtt aac atc ctc	432
Arg Asp Ala His Pro Met Ala Thr Leu Ala Ser Ser Val Asn Ile Leu	
130 135 140	
tcc acc tac tac cag gat cag ctg gat ccc ctg gat gag gct cag ctg	480
Ser Thr Tyr Tyr Gln Asp Gln Leu Asp Pro Leu Asp Glu Ala Gln Leu	
145 150 155 160	
gac aag gca acc gtc cgc ctg atg gcg aag gtt ccg atg ctg gct gca	528
Asp Lys Ala Thr Val Arg Leu Met Ala Lys Val Pro Met Leu Ala Ala	
165 170 175	
tac gca cac cgt gcc cgc aag ggt gcg ccg tac atg tac ccg gac aac	576
Tyr Ala His Arg Ala Arg Lys Gly Ala Pro Tyr Met Tyr Pro Asp Asn	
180 185 190	
tcc ctc aat gcc cgt gag aac ttc ctg cgc atg atg ttc ggt tac ccg	624
Ser Leu Asn Ala Arg Glu Asn Phe Leu Arg Met Met Phe Gly Tyr Pro	
195 200 205	
acc gag ccg tac gag gtt gat ccg atc atg gtc aaa gcc ctc gac aag	672
Thr Glu Pro Tyr Glu Val Asp Pro Ile Met Val Lys Ala Leu Asp Lys	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

110/123

210					215					220						
ctg	ctc	atc	ctg	cac	gca	gac	cac	gag	cag	aac	tgc	tcc	acc	tcc	act	720
Leu	Leu	Ile	Leu	His	Ala	Asp	His	Glu	Gln	Asn	Cys	Ser	Thr	Ser	Thr	
225					230					235					240	
gtc	cgc	atg	atc	ggc	tcc	gcg	cag	gcg	aac	atg	ttc	gtc	tcc	atc	gcc	768
Val	Arg	Met	Ile	Gly	Ser	Ala	Gln	Ala	Asn	Met	Phe	Val	Ser	Ile	Ala	
245					250					255						
ggc	ggc	atc	aac	gca	ctc	tcc	ggc	ccg	ctg	cac	ggc	ggc	gcc	aac	cag	816
Gly	Gly	Ile	Asn	Ala	Leu	Ser	Gly	Pro	Leu	His	Gly	Gly	Ala	Asn	Gln	
260					265					270						
gct	gtc	ctc	gag	atg	ctc	gag	gag	atc	gca	gcc	aac	ggc	ggc	gac	gca	864
Ala	Val	Leu	Glu	Met	Leu	Glu	Glu	Ile	Ala	Ala	Asn	Gly	Gly	Asp	Ala	
275					280					285						
acc	gac	ttc	atg	aac	cgc	gtg	aag	aac	aag	gag	aag	ggc	gtc	cgc	ctc	912
Thr	Asp	Phe	Met	Asn	Arg	Val	Lys	Asn	Lys	Glu	Lys	Gly	Val	Arg	Leu	
290					295					300						
atg	ggc	ttc	gga	cac	cgc	gtc	tac	aag	aac	tac	gat	ccg	cgt	gca	gcc	960
Met	Gly	Phe	Gly	His	Arg	Val	Tyr	Lys	Asn	Tyr	Asp	Pro	Arg	Ala	Ala	
305					310					315					320	
atc	gtc	aag	gac	acc	gcc	cac	gag	atc	ctc	gag	cac	ctc	ggc	ggc	gac	1008
Ile	Val	Lys	Asp	Thr	Ala	His	Glu	Ile	Leu	Glu	His	Leu	Gly	Gly	Asp	
325					330					335						
cca	ctg	ctg	gat	ctg	gct	ctc	aag	ctg	gaa	gaa	atc	gca	ctc	aac	gac	1056
Pro	Leu	Leu	Asp	Leu	Ala	Leu	Lys	Leu	Glu	Glu	Ile	Ala	Leu	Asn	Asp	
340					345					350						
gat	tac	ttc	atc	tcc	cgc	aag	ctg	tac	ccg	aac	gtg	gac	ttc	tac	acc	1104
Asp	Tyr	Phe	Ile	Ser	Arg	Lys	Leu	Tyr	Pro	Asn	Val	Asp	Phe	Tyr	Thr	
355					360					365						
ggc	ctg	atc	tac	cgc	gcc	atg	ggc	ttc	ccg	acg	gac	ttc	ttc	acc	gtc	1152
Gly	Leu	Ile	Tyr	Arg	Ala	Met	Gly	Phe	Pro	Thr	Asp	Phe	Phe	Thr	Val	
370					375					380						
ctg	ttc	gcc	atc	ggc	cgc	ctc	ccg	ggc	tgg	atc	gcc	cac	tac	cgc	gag	1200
Leu	Phe	Ala	Ile	Gly	Arg	Leu	Pro	Gly	Trp	Ile	Ala	His	Tyr	Arg	Glu	
385					390					395					400	
cag	ctc	gcc	gat	ccg	ggc	gcc	aag	atc	aac	cgt	cct	cgc	cag	atc	tac	1248
Gln	Leu	Ala	Asp	Pro	Gly	Ala	Lys	Ile	Asn	Arg	Pro	Arg	Gln	Ile	Tyr	
405					410					415						
acc	ggc	gag	acc	gca	cgc	aag	atc	atc	ccc	cgc	gaa	gag	cgc	tag		1293
Thr	Gly	Glu	Thr	Ala	Arg	Lys	Ile	Ile	Pro	Arg	Glu	Glu	Arg			
420					425					430						

<210> 90

<211> 430

THIS PAGE BLANK (USPTO)

111/123

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 90

Val	Ala	Ser	Asp	Asn	Asn	Lys	Ala	Val	Leu	His	Tyr	Pro	Gly	Gly	Glu	1	5	10	15
Phe	Glu	Met	Gly	Ile	Lys	Gln	Ala	Thr	Glu	Gly	Asn	Ser	Gly	Val	Ile	20	25	30	
Leu	Gly	Lys	Met	Leu	Ser	Glu	Thr	Gly	Leu	Val	Thr	Phe	Asp	Pro	Gly	35	40	45	
Tyr	Val	Ser	Thr	Gly	Ser	Thr	Glu	Ser	Lys	Ile	Thr	Tyr	Ile	Asp	Gly	50	55	60	
Asp	Ala	Gly	Ile	Leu	Arg	Tyr	Arg	Gly	Tyr	Asp	Ile	Ala	Asp	Leu	Ala	65	70	75	80
Glu	Asn	Ala	Thr	Phe	Asn	Glu	Val	Ser	Tyr	Leu	Leu	Ile	Lys	Gly	Glu	85	90	95	
Leu	Pro	Thr	Pro	Glu	Glu	Leu	His	Lys	Phe	Asn	Asp	Glu	Ile	Arg	His	100	105	110	
His	Thr	Leu	Leu	Asp	Glu	Asp	Phe	Lys	Ser	Gln	Phe	Asn	Val	Phe	Pro	115	120	125	
Arg	Asp	Ala	His	Pro	Met	Ala	Thr	Leu	Ala	Ser	Ser	Val	Asn	Ile	Leu	130	135	140	
Ser	Thr	Tyr	Tyr	Gln	Asp	Gln	Leu	Asp	Pro	Leu	Asp	Glu	Ala	Gln	Leu	145	150	155	160
Asp	Lys	Ala	Thr	Val	Arg	Leu	Met	Ala	Lys	Val	Pro	Met	Leu	Ala	Ala	165	170	175	
Tyr	Ala	His	Arg	Ala	Arg	Lys	Gly	Ala	Pro	Tyr	Met	Tyr	Pro	Asp	Asn	180	185	190	
Ser	Leu	Asn	Ala	Arg	Glu	Asn	Phe	Leu	Arg	Met	Met	Phe	Gly	Tyr	Pro	195	200	205	
Thr	Glu	Pro	Tyr	Glu	Val	Asp	Pro	Ile	Met	Val	Lys	Ala	Leu	Asp	Lys	210	215	220	
Leu	Leu	Ile	Leu	His	Ala	Asp	His	Glu	Gln	Asn	Cys	Ser	Thr	Ser	Thr	225	230	235	240
Val	Arg	Met	Ile	Gly	Ser	Ala	Gln	Ala	Asn	Met	Phe	Val	Ser	Ile	Ala	245	250	255	
Gly	Gly	Ile	Asn	Ala	Leu	Ser	Gly	Pro	Leu	His	Gly	Gly	Ala	Asn	Gln	260	265	270	
Ala	Val	Leu	Glu	Met	Leu	Glu	Glu	Ile	Ala	Ala	Asn	Gly	Gly	Asp	Ala	275	280	285	
Thr	Asp	Phe	Met	Asn	Arg	Val	Lys	Asn	Lys	Glu	Lys	Gly	Val	Arg	Leu	290	295	300	
Met	Gly	Phe	Gly	His	Arg	Val	Tyr	Lys	Asn	Tyr	Asp	Pro	Arg	Ala	Ala				

THIS PAGE BLANK (USPTO)

112/123

305		310		315		320
Ile Val Lys Asp Thr	Ala His Glu Ile	Leu Glu His Leu	Gly Gly Asp			
	325		330		335	
Pro Leu Leu Asp Leu	Ala Leu Lys Leu	Glu Glu Ile Ala	Leu Asn Asp			
	340		345		350	
Asp Tyr Phe Ile Ser	Arg Lys Leu Tyr	Pro Asn Val Asp	Phe Tyr Thr			
	355		360		365	
Gly Leu Ile Tyr Arg	Ala Met Gly Phe	Pro Thr Asp Phe	Phe Thr Val			
	370		375		380	
Leu Phe Ala Ile Gly	Arg Leu Pro Gly	Trp Ile Ala His	Tyr Arg Glu			
385		390		395		400
Gln Leu Ala Asp Pro	Gly Ala Lys Ile	Asn Arg Pro Arg	Gln Ile Tyr			
	405		410		415	
Thr Gly Glu Thr Ala	Arg Lys Ile Ile	Pro Arg Glu Glu	Arg			
	420		425		430	

<210> 91

<211> 1314

<212> DNA

<213> Brevibacterium lactofermentum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1311)

<400> 91

atg ttt gaa agg gat atc gtg gct act gat aac aac aag gct gtc ctg	48
Met Phe Glu Arg Asp Ile Val Ala Thr Asp Asn Asn Lys Ala Val Leu	
1 5 10 15	
cac tac ccc ggt ggc gag ttc gaa atg gac atc atc gag gct tct gag	96
His Tyr Pro Gly Gly Glu Phe Glu Met Asp Ile Ile Glu Ala Ser Glu	
20 25 30	
ggt aac aac ggt gtt gtc ctg ggc aag atg ctg tct gag act gga ctg	144
Gly Asn Asn Gly Val Val Leu Gly Lys Met Leu Ser Glu Thr Gly Leu	
35 40 45	
atc act ttt gac cca ggt tat gtg agc act ggc tcc acc gag tcg aag	192
Ile Thr Phe Asp Pro Gly Tyr Val Ser Thr Gly Ser Thr Glu Ser Lys	
50 55 60	
atc acc tac atc gat ggc gat gcg gga atc ctg cgt tac cgc ggc tat	240
Ile Thr Tyr Ile Asp Gly Asp Ala Gly Ile Leu Arg Tyr Arg Gly Tyr	
65 70 75 80	
gac atc gct gat ctg gct gag aat gcc acc ttc aac gag gtt tct tac	288
Asp Ile Ala Asp Leu Ala Glu Asn Ala Thr Phe Asn Glu Val Ser Tyr	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

113/123

										85											90											95																	
cta	ctt	atc	aac	ggt	gaa	cta	cca	acc	cca	gat	gag	ctt	cac	aag	ttt	336																																	
Leu	Leu	Ile	Asn	Gly	Glu	Leu	Pro	Thr	Pro	Asp	Glu	Leu	His	Lys	Phe																																		
															100											105											110												
aac	gac	gag	att	cgc	cac	cac	acc	ctt	ctg	gac	gag	gac	ttc	aag	tcc	384																																	
Asn	Asp	Glu	Ile	Arg	His	His	Thr	Leu	Leu	Asp	Glu	Asp	Phe	Lys	Ser																																		
															115											120											125												
cag	ttc	aac	gtg	ttc	cca	cgc	gac	gct	cac	cca	atg	gca	acc	ttg	gct	432																																	
Gln	Phe	Asn	Val	Phe	Pro	Arg	Asp	Ala	His	Pro	Met	Ala	Thr	Leu	Ala																																		
															130											135											140												
tcc	tcg	gtt	aac	att	ttg	tct	acc	tac	tac	cag	gat	cag	ctg	aac	cca	480																																	
Ser	Ser	Val	Asn	Ile	Leu	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Gln	Asp	Gln	Leu	Asn	Pro																																		
															145											150											155											160	
ctc	gat	gag	gca	cag	ctt	gat	aag	gca	acc	gtt	cgc	ctc	atg	gca	aag	528																																	
Leu	Asp	Glu	Ala	Gln	Leu	Asp	Lys	Ala	Thr	Val	Arg	Leu	Met	Ala	Lys																																		
															165											170											175												
gtt	cca	atg	ctg	gct	gcg	tac	gca	cac	cgc	gca	cgc	aag	ggt	gct	cct	576																																	
Val	Pro	Met	Leu	Ala	Ala	Tyr	Ala	His	Arg	Ala	Arg	Lys	Gly	Ala	Pro																																		
															180											185											190												
tac	atg	tac	cca	gac	aac	tcc	ctc	aac	gcg	cgt	gag	aac	ttc	ctg	cgc	624																																	
Tyr	Met	Tyr	Pro	Asp	Asn	Ser	Leu	Asn	Ala	Arg	Glu	Asn	Phe	Leu	Arg																																		
															195											200											205												
atg	atg	ttc	ggt	tac	cca	acc	gag	cca	tac	gag	atc	gac	cca	atc	atg	672																																	
Met	Met	Phe	Gly	Tyr	Pro	Thr	Glu	Pro	Tyr	Glu	Ile	Asp	Pro	Ile	Met																																		
															210											215											220												
gtc	aag	gct	ctg	gac	aag	ctg	ctc	atc	ctg	cac	gct	gac	cac	gag	cag	720																																	
Val	Lys	Ala	Leu	Asp	Lys	Leu	Leu	Ile	Leu	His	Ala	Asp	His	Glu	Gln																																		
															225											230											235											240	
aac	tgc	tcc	acc	tcc	acc	gtt	cgt	atg	atc	ggt	tcc	gca	cag	gcc	aac	768																																	
Asn	Cys	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Arg	Met	Ile	Gly	Ser	Ala	Gln	Ala	Asn																																		
															245											250											255												
atg	ttt	gtc	tcc	atc	gct	ggt	ggc	atc	aac	gct	ctg	tcc	ggc	cca	ctg	816																																	
Met	Phe	Val	Ser	Ile	Ala	Gly	Gly	Ile	Asn	Ala	Leu	Ser	Gly	Pro	Leu																																		
															260											265											270												
cac	ggt	ggc	gca	aac	cag	gct	gtt	ctg	gag	atg	ctc	gaa	gac	atc	aag	864																																	
His	Gly	Gly	Ala	Asn	Gln	Ala	Val	Leu	Glu	Met	Leu	Glu	Asp	Ile	Lys																																		
															275											280											285												
aac	aac	cac	ggt	ggc	gac	gca	acc	gcg	ttc	atg	aac	aag	gtc	aag	aac	912																																	
Asn	Asn	His	Gly	Gly	Asp	Ala	Thr	Ala	Phe	Met	Asn	Lys	Val	Lys	Asn																																		
															290											295											300												
aag	gaa	gac	ggc	gtc	cgc	ctc	atg	ggc	ttc	gga	cac	cgc	gtt	tac	aag	960																																	
Lys	Glu	Asp	Gly	Val	Arg	Leu	Met	Gly	Phe	Gly	His	Arg	Val	Tyr	Lys																																		
															305											310											315											320	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

114/123

```

aac tac gat cca cgt gca gca atc gtc aag gag acc gca cac gag atc 1008
Asn Tyr Asp Pro Arg Ala Ala Ile Val Lys Glu Thr Ala His Glu Ile
      325                      330                      335

ctc gag cac ctc ggt ggc gac gat ctt ctg gat ctg gca atc aag ctg 1056
Leu Glu His Leu Gly Gly Asp Asp Leu Leu Asp Leu Ala Ile Lys Leu
      340                      345                      350

gaa gaa att gca ctg gct gat gat tac ttc atc tcc cgc aag ctc tac 1104
Glu Glu Ile Ala Leu Ala Asp Asp Tyr Phe Ile Ser Arg Lys Leu Tyr
      355                      360                      365

ccg aac gta gac ttc tac acc ggc ctg atc tac cgc gca atg ggc ttc 1152
Pro Asn Val Asp Phe Tyr Thr Gly Leu Ile Tyr Arg Ala Met Gly Phe
      370                      375                      380

cca act gac ttc ttc acc gta ttg ttc gca atc ggt cgt ctg cca gga 1200
Pro Thr Asp Phe Phe Thr Val Leu Phe Ala Ile Gly Arg Leu Pro Gly
385                      390                      395                      400

tgg atc gct cac tac cgc gag cag ctc ggt gca gca ggc aac aag atc 1248
Trp Ile Ala His Tyr Arg Glu Gln Leu Gly Ala Ala Gly Asn Lys Ile
      405                      410                      415

aac cgc cca cgc cag gtc tac acc ggc aag gaa tcc cgc aag ttg gtt 1296
Asn Arg Pro Arg Gln Val Tyr Thr Gly Lys Glu Ser Arg Lys Leu Val
      420                      425                      430

cct cgc gag gag cgc taa 1314
Pro Arg Glu Glu Arg
      435

```

<210> 92

<211> 437

<212> PRT

<213> Brevibacterium lactofermentum

<400> 92

```

Met Phe Glu Arg Asp Ile Val Ala Thr Asp Asn Asn Lys Ala Val Leu
  1           5           10           15
His Tyr Pro Gly Gly Glu Phe Glu Met Asp Ile Ile Glu Ala Ser Glu
      20           25           30
Gly Asn Asn Gly Val Val Leu Gly Lys Met Leu Ser Glu Thr Gly Leu
      35           40           45
Ile Thr Phe Asp Pro Gly Tyr Val Ser Thr Gly Ser Thr Glu Ser Lys
      50           55           60
Ile Thr Tyr Ile Asp Gly Asp Ala Gly Ile Leu Arg Tyr Arg Gly Tyr
      65           70           75           80
Asp Ile Ala Asp Leu Ala Glu Asn Ala Thr Phe Asn Glu Val Ser Tyr
      85           90           95

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

115/123

Leu	Leu	Ile	Asn	Gly	Glu	Leu	Pro	Thr	Pro	Asp	Glu	Leu	His	Lys	Phe	100	105	110
Asn	Asp	Glu	Ile	Arg	His	His	Thr	Leu	Leu	Asp	Glu	Asp	Phe	Lys	Ser	115	120	125
Gln	Phe	Asn	Val	Phe	Pro	Arg	Asp	Ala	His	Pro	Met	Ala	Thr	Leu	Ala	130	135	140
Ser	Ser	Val	Asn	Ile	Leu	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Gln	Asp	Gln	Leu	Asn	Pro	145	150	155
Leu	Asp	Glu	Ala	Gln	Leu	Asp	Lys	Ala	Thr	Val	Arg	Leu	Met	Ala	Lys	165	170	175
Val	Pro	Met	Leu	Ala	Ala	Tyr	Ala	His	Arg	Ala	Arg	Lys	Gly	Ala	Pro	180	185	190
Tyr	Met	Tyr	Pro	Asp	Asn	Ser	Leu	Asn	Ala	Arg	Glu	Asn	Phe	Leu	Arg	195	200	205
Met	Met	Phe	Gly	Tyr	Pro	Thr	Glu	Pro	Tyr	Glu	Ile	Asp	Pro	Ile	Met	210	215	220
Val	Lys	Ala	Leu	Asp	Lys	Leu	Leu	Ile	Leu	His	Ala	Asp	His	Glu	Gln	225	230	235
Asn	Cys	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Arg	Met	Ile	Gly	Ser	Ala	Gln	Ala	Asn	245	250	255
Met	Phe	Val	Ser	Ile	Ala	Gly	Gly	Ile	Asn	Ala	Leu	Ser	Gly	Pro	Leu	260	265	270
His	Gly	Gly	Ala	Asn	Gln	Ala	Val	Leu	Glu	Met	Leu	Glu	Asp	Ile	Lys	275	280	285
Asn	Asn	His	Gly	Gly	Asp	Ala	Thr	Ala	Phe	Met	Asn	Lys	Val	Lys	Asn	290	295	300
Lys	Glu	Asp	Gly	Val	Arg	Leu	Met	Gly	Phe	Gly	His	Arg	Val	Tyr	Lys	305	310	315
Asn	Tyr	Asp	Pro	Arg	Ala	Ala	Ile	Val	Lys	Glu	Thr	Ala	His	Glu	Ile	325	330	335
Leu	Glu	His	Leu	Gly	Gly	Asp	Asp	Leu	Leu	Asp	Leu	Ala	Ile	Lys	Leu	340	345	350
Glu	Glu	Ile	Ala	Leu	Ala	Asp	Asp	Tyr	Phe	Ile	Ser	Arg	Lys	Leu	Tyr	355	360	365
Pro	Asn	Val	Asp	Phe	Tyr	Thr	Gly	Leu	Ile	Tyr	Arg	Ala	Met	Gly	Phe	370	375	380
Pro	Thr	Asp	Phe	Phe	Thr	Val	Leu	Phe	Ala	Ile	Gly	Arg	Leu	Pro	Gly	385	390	395
Trp	Ile	Ala	His	Tyr	Arg	Glu	Gln	Leu	Gly	Ala	Ala	Gly	Asn	Lys	Ile	405	410	415
Asn	Arg	Pro	Arg	Gln	Val	Tyr	Thr	Gly	Lys	Glu	Ser	Arg	Lys	Leu	Val	420	425	430
Pro	Arg	Glu	Glu	Arg														

THIS PAGE BLANK (USPTO)

435

<210> 93

<211> 1656

<212> DNA

<213> Corynebacterium thermoaminogenes

<220>

<221> CDS

<222> (309)..(1595)

<400> 93

```

acgcccgatt cttcaacaact atcgaagagg tcccaaccca cgcgttgacc cagggttgg 60
gtactttgtc ccgcgcgcaa aatatcgtgt tgggtggcaac tggccaagga aaagcagaca 120
gccatccgcg gaactgtgga aggtccagtg actgtcttctt gccaggttc cattctgcaa 180
atgcacaaca acgccaccat catcgttgat gaagcagcag catccaagct gaaaaatgct 240
gaccattacc gtctcatgga gcaattaaag ctgcgctaga aacaaaaagg aaagtactgt 300
gtggggct atg cac aca gaa ctt tcc agt ttg cgc cct gcg tac cat gtg 350
      Met His Thr Glu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ala Tyr His Val
          1             5             10
act cct ccg cag ggc aga ctc aat gat ccc aat gga atg tac gtc gat 398
Thr Pro Pro Gln Gly Arg Leu Asn Asp Pro Asn Gly Met Tyr Val Asp
    15             20             25             30
gga gat acc ctc cac gtc tac tac cag cac gat cca ggt ttc ccc ttc 446
Gly Asp Thr Leu His Val Tyr Tyr Gln His Asp Pro Gly Phe Pro Phe
          35             40             45
gca cca aag cgc acc ggt tgg gct cac acc acc acg ccg ttg acc gga 494
Ala Pro Lys Arg Thr Gly Trp Ala His Thr Thr Thr Pro Leu Thr Gly
          50             55             60
ccg cag cga ttg cag tgg acg cac ctg ccc gat gct ctt tac ccg gat 542
Pro Gln Arg Leu Gln Trp Thr His Leu Pro Asp Ala Leu Tyr Pro Asp
          65             70             75
gta tcc tat gac ctg gat gga tgc tat tcc ggc gga gcc gta ttt tct 590
Val Ser Tyr Asp Leu Asp Gly Cys Tyr Ser Gly Gly Ala Val Phe Ser
          80             85             90
gac ggc acg ctt aaa ctt ttc tac acc ggc aac cga aaa att gac ggc 638
Asp Gly Thr Leu Lys Leu Phe Tyr Thr Gly Asn Arg Lys Ile Asp Gly
          95             100             105             110
aag cgc cgc gcc acc caa aac ctc gtc gaa gtc gag gac cca act ggg 686
Lys Arg Arg Ala Thr Gln Asn Leu Val Glu Val Glu Asp Pro Thr Gly
          115             120             125
ctg atg ggc ggc att cat cgc cgc tcg cct aaa aat ccg ctt atc gac 734
Leu Met Gly Gly Ile His Arg Arg Ser Pro Lys Asn Pro Leu Ile Asp

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

117/123

130				135				140								
gga	ccc	gcc	agc	ggt	ttt	acg	ccc	cac	tac	cgc	gat	ccc	atg	atc	agc	782
Gly	Pro	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Pro	His	Tyr	Arg	Asp	Pro	Met	Ile	Ser	
145				150				155								
cct	gat	ggg	gat	ggt	tgg	aag	atg	gtt	ctt	ggg	gct	cag	cgc	gaa	aac	830
Pro	Asp	Gly	Asp	Gly	Trp	Lys	Met	Val	Leu	Gly	Ala	Gln	Arg	Glu	Asn	
160				165				170								
ctc	acc	ggt	gca	gcg	gtt	cta	tac	cgc	tcg	gca	gat	ctt	gaa	aac	tgg	878
Leu	Thr	Gly	Ala	Ala	Val	Leu	Tyr	Arg	Ser	Ala	Asp	Leu	Glu	Asn	Trp	
175				180				185				190				
gaa	ttc	tcc	ggt	gaa	atc	acc	ttt	gac	ctc	agc	gac	gca	caa	cct	ggt	926
Glu	Phe	Ser	Gly	Glu	Ile	Thr	Phe	Asp	Leu	Ser	Asp	Ala	Gln	Pro	Gly	
195				200				205								
tct	gcc	cct	gat	ctc	gtt	cct	ggc	ggc	tac	atg	tgg	gaa	tgc	ccc	aac	974
Ser	Ala	Pro	Asp	Leu	Val	Pro	Gly	Gly	Tyr	Met	Trp	Glu	Cys	Pro	Asn	
210				215				220								
ctt	ttt	acg	ctt	cgc	gat	gaa	aaa	acc	ggc	gaa	gac	ctc	gat	gtg	ctg	1022
Leu	Phe	Thr	Leu	Arg	Asp	Glu	Lys	Thr	Gly	Glu	Asp	Leu	Asp	Val	Leu	
225				230				235								
att	ttc	tgt	cca	caa	gga	ttg	gac	cgt	atc	gat	gat	gag	gtt	act	cac	1070
Ile	Phe	Cys	Pro	Gln	Gly	Leu	Asp	Arg	Ile	Asp	Asp	Glu	Val	Thr	His	
240				245				250								
tac	gca	agc	tct	gac	cag	tgc	gga	tat	gtc	gtc	ggc	aag	ctt	gaa	gaa	1118
Tyr	Ala	Ser	Ser	Asp	Gln	Cys	Gly	Tyr	Val	Val	Gly	Lys	Leu	Glu	Glu	
255				260				265				270				
acg	acc	ttc	cgt	gtc	ctg	cga	gga	ttc	agc	gag	ctg	gat	ttc	ggt	cat	1166
Thr	Thr	Phe	Arg	Val	Leu	Arg	Gly	Phe	Ser	Glu	Leu	Asp	Phe	Gly	His	
275				280				285								
gaa	ttc	tac	gcg	ccg	cag	gtt	gca	gtc	aac	ggt	tcc	gat	gcc	tgg	ctt	1214
Glu	Phe	Tyr	Ala	Pro	Gln	Val	Ala	Val	Asn	Gly	Ser	Asp	Ala	Trp	Leu	
290				295				300								
gtg	ggc	tgg	atg	gga	ttg	cct	gca	cag	gat	gat	cac	cca	aca	gtt	gcg	1262
Val	Gly	Trp	Met	Gly	Leu	Pro	Ala	Gln	Asp	Asp	His	Pro	Thr	Val	Ala	
305				310				315								
cag	gaa	gga	tgg	gtg	cac	tgc	ctg	acc	gtt	cct	cgc	agg	ctt	cat	ttg	1310
Gln	Glu	Gly	Trp	Val	His	Cys	Leu	Thr	Val	Pro	Arg	Arg	Leu	His	Leu	
320				325				330								
cgt	aac	cat	gcg	atc	tat	caa	gag	ctt	ctt	ctc	cca	gaa	ggg	gag	tcg	1358
Arg	Asn	His	Ala	Ile	Tyr	Gln	Glu	Leu	Leu	Leu	Pro	Glu	Gly	Glu	Ser	
335				340				345				350				
ggg	gta	act	aga	tct	gta	tta	ggt	tct	gaa	cct	gtc	cga	gta	gac	atc	1406
Gly	Val															

THIS PAGE BLANK (USPTO)

118/123

```

cga gac aat gtt tcc ctc gag tgg gat ggt gtc cgg ttg tct gtg gat 1454
Arg Asp Asn Val Ser Leu Glu Trp Asp Gly Val Arg Leu Ser Val Asp
      370      375      380
cgc gat ggc gat cgt cgt gta gct gaa gta aaa cct ggc gaa tta gtg 1502
Arg Asp Gly Asp Arg Arg Val Ala Glu Val Lys Pro Gly Glu Leu Val
      385      390      395
atc gcg gac gat aat aca gcg att gag ata aca gca ggt cat ggc cag 1550
Ile Ala Asp Asp Asn Thr Ala Ile Glu Ile Thr Ala Gly His Gly Gln
      400      405      410
gtt tcc ttc gct ttc cgc acc ttc aaa ggt gac act att gag aga 1595
Val Ser Phe Ala Phe Arg Thr Phe Lys Gly Asp Thr Ile Glu Arg
415      420      425
taagtcataa aaaagggcct tctgtggcgg attgtacaaa tacttcgcaa aatcccttga 1655
t 1656

```

<210> 94

<211> 429

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 94

```

Met His Thr Glu Leu Ser Ser Leu Arg Pro Ala Tyr His Val Thr Pro
 1      5      10      15
Pro Gln Gly Arg Leu Asn Asp Pro Asn Gly Met Tyr Val Asp Gly Asp
      20      25      30
Thr Leu His Val Tyr Tyr Gln His Asp Pro Gly Phe Pro Phe Ala Pro
      35      40      45
Lys Arg Thr Gly Trp Ala His Thr Thr Thr Pro Leu Thr Gly Pro Gln
      50      55      60
Arg Leu Gln Trp Thr His Leu Pro Asp Ala Leu Tyr Pro Asp Val Ser
65      70      75      80
Tyr Asp Leu Asp Gly Cys Tyr Ser Gly Gly Ala Val Phe Ser Asp Gly
      85      90      95
Thr Leu Lys Leu Phe Tyr Thr Gly Asn Arg Lys Ile Asp Gly Lys Arg
      100      105      110
Arg Ala Thr Gln Asn Leu Val Glu Val Glu Asp Pro Thr Gly Leu Met
      115      120      125
Gly Gly Ile His Arg Arg Ser Pro Lys Asn Pro Leu Ile Asp Gly Pro
      130      135      140
Ala Ser Gly Phe Thr Pro His Tyr Arg Asp Pro Met Ile Ser Pro Asp
145      150      155      160
Gly Asp Gly Trp Lys Met Val Leu Gly Ala Gln Arg Glu Asn Leu Thr
      165      170      175

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<210> 95
<211> 35
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for amplifying scrB gene

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<400> 95
gtacatatg tcgtagaac gcgtaatacg actca 35

<210> 96
<211> 35
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying scrB gene

<400> 96
cgtagaacg cgtaatacga ctactatag ggaga 35

<210> 97
<211> 30
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:primer for
LA cloning of scrB

<400> 97
gtaaagagcg tcgggcaggc gcgtccactg 30

<210> 98
<211> 30
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:primer for
LA cloning of scrB

<400> 98
gggtgagcc cagccggtgc gctttggtgc 30

<210> 99

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
LA cloning of scrB

<400> 99

atcagccctg atggtgatgg ttggaaaatg

30

<210> 100

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
LA cloning of scrB gene

<400> 100

ggtgcagcgg ttctataccg ctcgacagat

30

<210> 101

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying scrB gene

<400> 101

ggcccgggac gcccgattct tcaacactat cg

32

<210> 102

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying scrB gene

<400> 102

ggcccgggga tcaagggatt ttgcgaagta tt

32

<210> 103

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying icd gene

<400> 103

gaagatctct atgaccagcg catcaagctg

30

<210> 104

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying icd gene

<400> 104

gaagatctgg tcatcccaga acctgatcac

30

<210> 105

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gdh gene

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<400> 105

gcgcctgcag gtccgagggt gtgcgttcgg ca

32

<210> 106

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gdh gene

<400> 106

gcgcctgcag gcaccaggat gccctcaacc ag

32

<210> 107

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<400> 107

ggggtaccga tcactataac cccacagcac

30

<210> 108

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer for
amplifying gltA gene

<400> 108

ggggtaccct ggctgatctg aactaggcgc

30

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31, C12N15/56, C12N9/88,
C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34, C12N9/26, C12P13/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31, C12N15/56, C12N9/88,
C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34, C12N9/26, C12P13/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JICST FILE (JOIS), WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), MEDLINE (STN),
EMBL/DDBJ/Genbank/PIR/Swissprot/Geneseq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 7-63383, B2, (Ajinomoto Co., Inc.), 12 July, 1995 (12.07.95), & FR, 2612937, A & US, 5250434, A & AU, 8811614, A & BR, 8801289, A & KR, 9606580, A	1-49
Y	JP, 4-4887, A (Ajinomoto Co., Inc.), 09 January, 1992 (09.01.92), & FR, 2661191, A & US, 5250423, A	1-49
Y	Microbiology, Vol.144 [5] (1998), K. Takai et al., "ppc, the gene for phosphoenolpyruvate carboxylase from an extremely thermophilic bacterium, <i>Rhodothermus obamensis</i> : Cloning, sequencing and overexpression in <i>Escherichia coli</i> ", pp.1423-1434	1-49
Y	JP, 5-56782, A (Ajinomoto Co., Inc.), 09 March, 1993 (09.03.93), & EP, 530765, A2 & US, 57700661, A & CA, 2077308, A & US, 5439822, A & TW, 260709, A & DE, 69217144, B	1, 17, 18, 49



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not
considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing
date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is
cited to establish the publication date of another citation or other
special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other
means

"P" document published prior to the international filing date but later
than the priority date claimed

"T"

later document published after the international filing date or
priority date and not in conflict with the application but cited to
understand the principle or theory underlying the invention

"X"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be
considered novel or cannot be considered to involve an inventive
step when the document is taken alone

"Y"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be
considered to involve an inventive step when the document is
combined with one or more other such documents, such
combination being obvious to a person skilled in the art

"&"

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
19 December, 2000 (19.12.00)

Date of mailing of the international search report
26 December, 2000 (26.12.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO, 92/18635, A1 (Commonwealth Sci. & Ind. Res. Org.), 29 October, 1992 (29.10.92), & ZA, 9202761, A & AU, 9215771, A & NZ, 242370, A Fig. 5; Table 4	1,17,18,49
Y	Gene, Vol.145[1](1994) D.Wereecke et al. "Cloning and sequence analysis of the gene encoding isocitrate lyase from <i>Rhodococcus fascians</i> " pp.109-114	1,17,18,19
Y	Arch. Microbiol, Vol.166[2](1996) W. Jager et al. "A <i>Corynebacterium glutamicum</i> gene encoding a two-domain protein similar to biotin carboxylases and biotin-carboxyl-carrier proteins" pp.977-984	2,19,20,49
Y	Mol. Microbiol, Vol.19(1996) S. Donadio et al. "Erythromycin production in <i>Saccharopolyspora erythraea</i> does not require a functional propionyl-CoA carbocylase" pp.977-984	2,19,20,49
Y	WO, 94/08016, A1 (Arch Dev. Corp.), 14 April, 1994 (14.04.94), & EP, 663012, A1 & AU, 9352956, A & US, 5539092, A & US, 5756290, A & US, 5792627, A & US, 5972644, A Figs. 2,3; sequence No. 6	2,19,20,49
Y	WO, 96/32484, A2 (Arch Dev. Corp.), & EP, 820514, A1 & AU, 9655432, A & US, 5910626, A Claim 32; sequence No. 8	2,19,20,49
Y	Biosci. Biotechnol. Biochem., Vol.60(1996), E. Kimura et al., "Molecular cloning of a novel gene, <i>dtsR</i> , which rescues the detergent sensitivity of a mutant derived from <i>Brevibacterium lactofermentum</i> " pp.1565-1570	3,4,21-24,49
Y	WO, 95/23224, A1 (Ajinomoto Co., Inc.), 31 August, 1995 (31.08.95), & EP, 752472, A1 & BR, 9506883, A & US, 5929221, A & DE, 69514914, B Claim 2, sequence No. 2	3,4,21-24,49
Y	JP, 10-234371, A (Ajinomoto Co., Inc.), 08 September, 1998 (08.09.98) (Family: none)	3,4,21-24,49
Y	JP, 7-121227, B2 (KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD.), 25 December, 1995 (25.12.95) (Family: none)	5,25,26,49
Y	J. Bacteriol., Vol.178(1996) A. M. Alves et al., "Characterization and phylogeny of the <i>pfp</i> gene of <i>Amycolatopsis methanolica</i> encoding PPI-dependent phosphofructokinase" pp.149-155	5,25,26,49
Y	Appl. Environ. Microbiol., Vol.63(1997), A.M.C.R.Alves et al., "Identification of ATP-dependent phosphofructokinase as a regulatory step in the glycolytic pathway of the actinomyete <i>Streptomyces</i> <i>coelicolor</i> A3(2)" pp.951-956	5,25,26,49

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	J. Bacteriol., Vol.177(1995) W. Kronmeyer et al. "Structure of the <i>gluABCD</i> cluster encoding the glutamate uptake system of <i>Corynebacterium glutamicum</i> ", pp.1152-1158	7,29,30,49
Y	Eur. J. Biochem., Vol.227[1-2](1995), C. Rollin et al., "13C-NMR studies of <i>Corynebacterium melassecola</i> metabolic pathways" pp.488-493	8,31,32,49
Y	J. Bacteriol., Vol.176(1994), S. Hein et al., "Biochemical and molecular characterization of the <i>Alcaligenes eutrophus</i> pyruvate dehydrogenase complex and identification of new type of dihydrolipoamide dehydrogenase", pp.4394-4408	8,31,32,49
Y	Eur. J. Biochem., vol.133(1983), P. E. Stephens et al., "The pyruvate dehydrogenase complex of <i>Escherichia coli</i> K12. Nucleotide sequence encoding the pyruvate dehydrogenase component", pp.155-162	8,31,32,49
Y	WO, 99/18228, A2 (Forschungszentrum Juelich GmbH), 15 April, 1999 (15.04.99), & EP, 10125621, A2 & AU, 9911482, A & ZA, 9809014, A & DE, 19831609, A1 & SK, 200000481, A & BR, 9813021, A Claims 15, 18; sequence No. 2	9,33,34,49
Y	JP, 10-165180, A (Ajinomoto Co., Inc.), 23 June, 1998 (23.06.98), & EP, 857784, A2 & SK, 9701635, A & HU, 9702361, A2 & BR, 9706058, A	10,35,36,49
Y	JP, 2-291276, A (Degussa AG.), 18 April, 1990 (18.04.90), & EP, 358940, A1 & GB, 2223754, A & DE, 68924227, B	10,35,36,49
Y	JP, 11-196887, A (Mitsubishi Chemical Corporation), 27 July, 1999 (27.07.99) (Family: none)	10,35,36,49
Y	JP, 8-66189, A (Mitsubishi Chemical Corporation), 12 March, 1996 (12.03.96) (Family: none)	10,35,36,49
Y	MIKROBIOLOGIA, Vol.56[5](1987), M. P. Ruklish et al., "The functioning of the tricarboxylic acid cycle in <i>Brevibacterium flavum</i> and <i>Micrococcus glutamicus</i> ", pp.759-763	11,37,38,49
Y	J. Bacteriol., Vol.175(1993), J. M. Mengaud et al., "The major iron-containing protein of <i>Legionella pneumophila</i> is an aconitase homologous with the human iron-responsive element-binding protein" pp.5666-5676	11,37,38,49
Y	Eur. J. Biochem. Vol.204(1992), c. Prodromou et al., "The aconitase of <i>Escherichia coli</i> . Nucleotide sequence of the aconitase gene and amino acid sequence similarity with mitochondrial isopropylmalate isomerases", pp.599-609	11,37,38,49

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	J. Bacteriol., Vol.177(1995), B. J. Eikmanns et al., "Cloning, sequence analysis, expression, and inactivation of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>icd</i> gene encoding isocitrate dehydrogenase and biochemical characterization of the enzyme", pp.774-782	12,39,40,49
Y	J. Bacteriol., Vol.175(1993), A. Ishi et al., "Genes encoding two isocitrate dehydrogenase isozymes of a psychrophilic bacterium, <i>Vibrio</i> sp. Strain ABE-1", pp.6873-6880	12,39,40,49
Y	Genbank, Acc. No. Y16642(01 February, 1999), B. J. Eikmanns et al., " <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>lpd</i> gene, complete CDS"	13,41,42,49
Y	WO, 97/48790, A1 (Ajinomoto Co., Inc.), 24 December, 1997 (24.12.97), & JP, 10-87, A & EP, 974647, A1 Claims; pages 38-40; sequence No. 7	14,43,44,49
Y	WO, 95/34672, A1 (Ajinomoto Co., Inc.), 21 December, 1995 (21.12.95), & US, 5977331, A & EP, 771879, A1 Claims; sequence Nos. 1, 2	14,43,44,49
Y	Mol. Microbiol., Vol.,6(1992), E. R. Boermann et al., "Molecular analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>gdh</i> gene encoding glutamate dehydrogenase", pp.317-326	15,45,46,49
Y	JP, 6-502548, A (Orsan), 24 March, 1994 (24.03.94), & EP, 551506, A1 & WO, 93/03158, A1 & FR, 2679921, A1 & FR, 2679922, A1 & US, 6027920, A	15,45,46,49
Y	Microbiology, Vol.140(1994), B. J. Eikmanns et al., "Nucleotide sequence, expression and transcriptional analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>glta</i> gene encoding citrate synthase", pp.1817-1828	16,47,48,49
Y	Mol. Microbil., Vol.11(1994), M. A. Pardo et al., "Nodulation ability of <i>Rhizobium tropici</i> is conditioned by a plasmid-encoded citrate synthase", pp.315-321	16,47,48,49
Y	JP, 8-196280, A (Ajinomoto Co., Inc.), 06 August, 1996 (06.08.96), & EP, 724017, A2 & FR, 2729970, A & SK, 9600112, A & ZA, 9600656, A & BR, 9600268, A	6,27,28,49
Y	JP, 5-244958, A (Ajinomoto Co., Ltd.), 24 September, 1993 (24.09.93), & US, 5556776, A	6,27,28,49

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31,
C12N15/56, C12N9/88, C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34,
C12N9/26, C12P13/04

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31,
C12N15/56, C12N9/88, C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34,
C12N9/26, C12P13/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JICSTファイル (JOIS), WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG),
MEDLINE (STN),
EMBL/DBJ/Genbank/PIR/Swissprot/Geneseq

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 7-63383, B2 (味の素株式会社) 12. 7月. 1995 (12. 07. 95) &FR, 2612937, A &US, 5250434, A &AU, 8811614, A &BR, 8801289, A &KR, 9606580, A	1-49
Y	JP, 4-4887, A (味の素株式会社) 9. 1月. 1992 (09. 01. 92) &FR, 2661191, A &US, 5250423, A	1-49

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に関する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

19. 12. 00

国際調査報告の発送日

26.12.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

上條 肇

4B

9453

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	Microbiology, Vol. 144[5] (1998) K. Takai <i>et al.</i> "ppc, the gene for phosphoenolpyruvate carboxylase from an extremely thermophilic bacterium, <i>Rhodothermus obamensis</i> : Cloning, sequenceing and overexpression in <i>Escherichia</i> <i>coli</i> " p. 1423-1434	1-49
Y	J P, 5-56782, A (味の素株式会社) 9. 3月. 1993 (09. 03. 93) &EP, 530765, A2 &US, 5700661, A &CA, 2077308, A &US, 5439822, A &TW, 260709, A &DE, 69217144, B	1, 17, 18, 49
Y	WO, 92/18635, A1 (Commonwealth Sci. & Ind. Res. Org.) 29. 10月. 1992 (29. 10. 92) &ZA, 9202761, A &AU, 9215771, A &NZ, 242370, A 第5図, Table4参照	1, 17, 18, 49
Y	Gene, Vol. 145[1] (1994) D. Wereecke <i>et al.</i> "Cloning and sequence analysis of the gene encoding isocitrate lyase from <i>Rhodococcus fascians</i> " p. 109-114	1, 17, 18, 49
Y	Arch. Microbiol, Vol. 166[2] (1996) W. Jager <i>et al.</i> "A <i>Corynebacterium glutamicum</i> gene encoding a two-domain protein similar to biotin carboxylases and biotin-carboxyl -carrier proteins" p. 977-984	2, 19, 20, 49
Y	Mol. Microbiol, Vol. 19 (1996) S. Donadio <i>et al.</i> "Erythromycin production in <i>Saccharopolyspora erythraea</i> does not require a functional propionyl-CoA carbocylase" p. 977-984	2, 19, 20, 49
Y	WO, 94/08016, A1 (Arch Dev. Corp.) 14. 4月. 1994 (14. 04. 94) &EP, 663012, A1 &AU, 9352956, A &US, 5539092, A &US, 5756290, A &US, 5792627, A &US, 5972644, A 第2, 3図, 配列番号6参照	2, 19, 20, 49
Y	WO, 96/32484, A2 (Arch Dev. Corp.) 17. 10月. 1996 (17. 10. 96) &EP, 820514, A1 &AU, 9655432, A &US, 5910626, A 請求項32, 配列番号8参照	2, 19, 20, 49
Y	Biosci. Biotechnol. Biochem., Vol. 60 (1996) E. Kimura <i>et al.</i> "Molecular cloning of a novel gene, <i>ptsR</i> , which rescues the detergent sensitivity of a mutant derived from <i>Brevibacterium lactofermentum</i> " p. 1565-1570	3, 4, 21-24, 49
Y	WO, 95/23224, A1 (Ajinomoto Co. Inc.) 31. 8月. 1995 (31. 08. 95) &EP, 752472, A1 &BR, 9506883, A &US, 5929221, A &DE, 69514914, B 請求項2, 配列番号2参照	3, 4, 21-24, 49

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 10-234371, A (味の素株式会社) 8. 9月. 1998 (08. 09. 98) (ファミリー無し)	3, 4, 21-24, 49
Y	J P, 7-121227, B2 (協和醗酵工業株式会社) 25. 12月. 1995 (25. 12. 95) (ファミリー無し)	5, 25, 26, 49
Y	J. Bacteriol., Vol. 178(1996) A. M. Alves <i>et al.</i> "Characterization and phylogeny of the <i>pfp</i> gene of <i>Amycolatopsis methanolica</i> encoding PPI-dependent phosphofructokinase" p. 149-155	5, 25, 26, 49
Y	Appl. Environ. Microbiol., Vol. 63(1997) A. M. C. R. Alves <i>et al.</i> "Identification of ATP-dependent phosphofructokinase as a regulatory step in the glycolytic pathway of the actinomycete <i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)" p. 951-956	5, 25, 26, 49
Y	J. Bacteriol., Vol. 177(1995) W. Kronmeyer <i>et al.</i> "Structure of the <i>gluABCD</i> cluster encoding the glutamate uptake system of <i>Corynebacterium glutamicum</i> " p. 1152-1158	7, 29, 30, 49
Y	Eur. J. Biochem., Vol. 227[1-2](1995) C. Rollin <i>et al.</i> " ¹³ C-NMR studies of <i>Corynebacterium melassecola</i> metabolic pathways" p. 488-493	8, 31, 32, 49
Y	J. Bacteriol., Vol. 176(1994) S. Hein <i>et al.</i> "Biochemical and molecular characterization of the <i>Alcaligenes eutrophus</i> pyruvate dehydrogenase complex and identification of a new type of dihydrolipoamide dehydrogenase" p. 4394-4408	8, 31, 32, 49
Y	Eur. J. Biochem., Vol. 133(1983) P. E. Stephens <i>et al.</i> "The pyruvate dehydrogenase complex of <i>Escherichia coli</i> K12. Nucleotide sequence encoding the pyruvate dehydrogenase component" p. 155-162	8, 31, 32, 49
Y	WO, 99/18228, A2 (Forschungszentrum Juelich GMBH) 15. 4月. 1999 (15. 04. 99) &EP, 10125621, A2 &AU, 9911482, A &ZA, 9809014, A &DE, 19831609, A1 &SK, 200000481, A &BR, 9813021, A 請求項15, 18, 配列番号2	9, 33, 34, 49
Y	J P, 10-165180, A (味の素株式会社) 23. 6月. 1998 (23. 06. 98) &EP, 857784, A2 &SK, 9701635, A &HU, 9702361, A2 &BR, 9706058, A	10, 35, 36, 49
Y	J P, 2-291276, A (Degussa AG.) 18. 4月. 1990 (18. 04. 90) &EP, 358940, A1 &GB, 2223754, A &DE, 68924227, B	10, 35, 36, 49

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 11-196887, A (三菱化学株式会社) 27. 7月. 1999 (27. 07. 99) (ファミリー無し)	10, 35, 36, 49
Y	J P, 8-66189, A (三菱化学株式会社) 12. 3月. 1996 (12. 03. 96) (ファミリー無し)	10, 35, 36, 49
Y	MIKROBIOLOGIYA, Vol. 56[5] (1987) M. P. Ruklish <i>et al.</i> "The functioning of the tricarboxylic acid cycle in <i>Brevibacterium flavum</i> and <i>Micrococcus glutamicus</i> " p. 759-763	11, 37, 38, 49
Y	J. Bacteriol., Vol. 175 (1993) J. M. Mengaud <i>et al.</i> "The major iron-containing protein of <i>Legionella</i> <i>pneumophila</i> is an aconitase homologous with the human iron- responsive element-binding protein" p. 5666-5676	11, 37, 38, 49
Y	Eur. J. Biochem., Vol. 204 (1992) C. Prodromou <i>et al.</i> "The aconitase of <i>Escherichia coli</i> . Nucleotide sequence of the aconitase gene and amino acid sequence similarity with mitochondrial isopropylmalate isomerases" p. 599-609	11, 37, 38, 49
Y	J. Bacteriol., Vol. 177 (1995) B. J. Eikmanns <i>et al.</i> "Cloning, sequence analysis, expression, and inactivation of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>icd</i> gene encoding isocitrate dehydrogenase and biochemical characterization of the enzyme" p. 774-782	12, 39, 40, 49
Y	J. Bacteriol., Vol. 175 (1993) A. Ishii <i>et al.</i> "Genes encoding two isocitrate dehydrogenase isozymes of a psychrophilic bacterium, <i>Vibrio</i> sp. strain ABE-1" p. 6873-6880	12, 39, 40, 49
Y	Genbank, Acc. No. Y16642 (1999-Feb-01) B. J. Eikmanns <i>et al.</i> " <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>lpd</i> gene, complete CDS"	13, 41, 42, 49
Y	WO, 97/48790, A1 (味の素株式会社) 24. 12月. 1997 (24. 12. 97) & J P, 10-87, A & EP, 974647, A1 特許請求の範囲, 38-40頁, 配列番号7	14, 43, 44, 49
Y	WO, 95/34672, A1 (味の素株式会社) 21. 12月. 1995 (21. 12. 95) & US, 5977331, A & EP, 771879, A1 特許請求の範囲, 配列番号1, 2	14, 43, 44, 49
Y	Mol. Microbiol., Vol. 6 (1992) E. R. Boermann <i>et al.</i> "Molecular analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>gdh</i> gene encoding glutamate dehydrogenase" p. 317-326	15, 45, 46, 49

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 6-502548, A (Orsan) 24. 3月. 1994 (24. 03. 94) &EP, 551506, A1 &WO, 93/03158, A1 &FR, 2679921, A1 &FR, 2679922, A1 &US, 6027920, A	15, 45, 46, 49
Y	Microbiology, Vol. 140(1994) B. J. Eikmanns <i>et al.</i> "Nucleotide sequence, expression and transcriptional analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum gltA</i> gene encoding citrate syntase" p. 1817-1828	16, 47, 48, 49
Y	Mol. Microbiol, Vol. 11(1994) M. A. Pardo <i>et al.</i> "Nodulating ability of <i>Rhizobium tropici</i> is conditioned by a plasmid- encoded citrate syntase" p. 315-321	16, 47, 48, 49
Y	J P, 8-196280, A (味の素株式会社) 6. 8月. 1996 (06. 08. 96) &EP, 724017, A2 &FR, 2729970, A &SK, 9600112, A &ZA, 9600656, A &BR, 9600268, A	6, 27, 28, 49
Y	J P, 5-244958, A (味の素株式会社) 24. 9月. 1993 (24. 09. 93) &US, 5556776, A	6, 27, 28, 49

THIS PAGE BLANK (USPTO)



From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

To:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year)

06 July 2001 (06.07.01)

International application No.

PCT/JP00/06913

Applicant's or agent's file reference

B691SMOP1072

International filing date (day/month/year)

04 October 2000 (04.10.00)

Priority date (day/month/year)

04 October 1999 (04.10.99)

Applicant

HIRANO, Seiko et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

10 April 2001 (10.04.01)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Henrik Nyberg

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TOYAMA, Tsutomu
Yokoyama Building 6th floor
4-10, Higashi Nihonbashi 3-chome
Chuo-ku, Tokyo 103-0004
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 09 April 2002 (09.04.02)	
Applicant's or agent's file reference B691SMOP1072	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP00/06913	International filing date (day/month/year) 04 October 2000 (04.10.00)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant
 ☒ the inventor
 ☐ the agent
 ☐ the common representative

Name and Address

NAKAMATSU, Tsuyoshi
C/O Ajinomoto Co., Inc.
Fermentation & Biotechnology
Laboratories
1-1, Suzuki-cho, Kawasaki-ku
Kawasaki-shi, Kanagawa 210-8681
Japan

State of Nationality

JP

State of Residence

JP

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person
 ☐ the name
 ☒ the address
 ☐ the nationality
 ☐ the residence

Name and Address

NAKAMATSU, Tsuyoshi
c/o Tokyo Denki University
Department of Materials Science
and Engineering
2-2, Kanda Nishiki-cho
Chiyoda-ku, Tokyo 101-0054
Japan

State of Nationality

JP

State of Residence

JP

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
 ☐ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority
 ☒ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority
 ☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Shinji IGARASHI

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

THIS PAGE BLANK (USPTO)

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号	B 6 9 1 SMOP 1 0 7 2	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 0 0 / 0 6 9 1 3	国際出願日 (日.月.年) 0 4 . 1 0 . 0 0	優先日 (日.月.年) 0 4 . 1 0 . 9 9	
出願人 (氏名又は名称) 味 の 素 株 式 会 社			

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 6 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は

☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は

☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

Page 1

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31,
C12N15/56, C12N9/88, C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34,
C12N9/26, C12N13/04

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31,
C12N15/56, C12N9/88, C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34,
C12N9/26, C12N13/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JICSTファイル (JOIS), WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG),
MEDLINE (STN),
EMBL/DDBJ/Genbank/PIR/Swissprot/Geneseq

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 7-63383, B2 (味の素株式会社) 12. 7月. 1995 (12. 07. 95) &FR, 2612937, A &US, 5250434, A &AU, 8811614, A &BR, 8801289, A &KR, 9606580, A	1-49
Y	JP, 4-4887, A (味の素株式会社) 9. 1月. 1992 (09. 01. 92) &FR, 2661191, A &US, 5250423, A	1-49

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

19. 12. 00

国際調査報告の発送日

26.12.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

上條 肇



4B

9453

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	Microbiology, Vol. 144[5] (1998) K. Takai <i>et al.</i> "ppc, the gene for phosphoenolpyruvate carboxylase from an extremely thermophilic bacterium, <i>Rhodothermus obamensis</i> : Cloning, sequencing and overexpression in <i>Escherichia coli</i> " p. 1423-1434	1-49
Y	J P, 5-56782, A (味の素株式会社) 9. 3月. 1993 (09. 03. 93) & EP, 530765, A2 & US, 5700661, A & CA, 2077308, A & US, 5439822, A & TW, 260709, A & DE, 69217144, B	1, 17, 18, 49
Y	WO, 92/18635, A1 (Commonwealth Sci. & Ind. Res. Org.) 29. 10月. 1992 (29. 10. 92) & ZA, 9202761, A & AU, 9215771, A & NZ, 242370, A 第5図, Table4参照	1, 17, 18, 49
Y	Gene, Vol. 145[1] (1994) D. Werecke <i>et al.</i> "Cloning and sequence analysis of the gene encoding isocitrate lyase from <i>Rhodococcus fascians</i> " p. 109-114	1, 17, 18, 49
Y	Arch. Microbiol, Vol. 166[2] (1996) W. Jager <i>et al.</i> "A <i>Corynebacterium glutamicum</i> gene encoding a two-domain protein similar to biotin carboxylases and biotin-carboxyl -carrier proteins" p. 977-984	2, 19, 20, 49
Y	Mol. Microbiol, Vol. 19 (1996) S. Donadio <i>et al.</i> "Erythromycin production in <i>Saccharopolyspora erythraea</i> does not require a functional propionyl-CoA carboxylase" p. 977-984	2, 19, 20, 49
Y	WO, 94/08016, A1 (Arch Dev. Corp.) 14. 4月. 1994 (14. 04. 94) & EP, 663012, A1 & AU, 9352956, A & US, 5539092, A & US, 5756290, A & US, 5792627, A & US, 5972644, A 第2, 3図, 配列番号6参照	2, 19, 20, 49
Y	WO, 96/32484, A2 (Arch Dev. Corp.) 17. 10月. 1996 (17. 10. 96) & EP, 820514, A1 & AU, 9655432, A & US, 5910626, A 請求項32, 配列番号8参照	2, 19, 20, 49
Y	Biosci. Biotechnol. Biochem., Vol. 60 (1996) E. Kimura <i>et al.</i> "Molecular cloning of a novel gene, <i>dtsR</i> , which rescues the detergent sensitivity of a mutant derived from <i>Brevibacterium lactofermentum</i> " p. 1565-1570	3, 4, 21-24, 49
Y	WO, 95/23224, A1 (Ajinomoto Co. Inc.) 31. 8月. 1995 (31. 08. 95) & EP, 752472, A1 & BR, 9506883, A & US, 5929221, A & DE, 69514914, B 請求項2, 配列番号2参照	3, 4, 21-24, 49

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 10-234371, A (味の素株式会社) 8. 9月. 1998 (08. 09. 98) (ファミリー無し)	3, 4, 21-24, 49
Y	J P, 7-121227, B2 (協和醗酵工業株式会社) 25. 12月. 1995 (25. 12. 95) (ファミリー無し)	5, 25, 26, 49
Y	J. Bacteriol., Vol. 178(1996) A. M. Alves <i>et al.</i> "Characterization and phylogeny of the <i>pfp</i> gene of <i>Amycolatopsis methanolica</i> encoding PPI-dependent phosphofructokinase" p. 149-155	5, 25, 26, 49
Y	Appl. Environ. Microbiol., Vol. 63(1997) A. M. C. R. Alves <i>et al.</i> "Identification of ATP-dependent phosphofructokinase as a regulatory step in the glycolytic pathway of the actinomycete <i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)" p. 951-956	5, 25, 26, 49
Y	J. Bacteriol., Vol. 177(1995) W. Kronmeyer <i>et al.</i> "Structure of the <i>gluABCD</i> cluster encoding the glutamate uptake system of <i>Corynebacterium glutamicum</i> " p. 1152-1158	7, 29, 30, 49
Y	Eur. J. Biochem., Vol. 227[1-2](1995) C. Rollin <i>et al.</i> " ¹³ C-NMR studies of <i>Corynebacterium melassecola</i> metabolic pathways" p. 488-493	8, 31, 32, 49
Y	J. Bacteriol., Vol. 176(1994) S. Hein <i>et al.</i> "Biochemical and molecular characterization of the <i>Alcaligenes eutrophus</i> pyruvate dehydrogenase complex and identification of a new type of dihydrolipoamide dehydrogenase" p. 4394-4408	8, 31, 32, 49
Y	Eur. J. Biochem., Vol. 133(1983) P. E. Stephens <i>et al.</i> "The pyruvate dehydrogenase complex of <i>Escherichia coli</i> K12. Nucleotide sequence encoding the pyruvate dehydrogenase component" p. 155-162	8, 31, 32, 49
Y	WO, 99/18228, A2 (Forschungszentrum Juelich GMBH) 15. 4月. 1999 (15. 04. 99) & EP, 10125621, A2 & AU, 9911482, A & ZA, 9809014, A & DE, 19831609, A1 & SK, 200000481, A & BR, 9813021, A 請求項15, 18, 配列番号2	9, 33, 34, 49
Y	J P, 10-165180, A (味の素株式会社) 23. 6月. 1998 (23. 06. 98) & EP, 857784, A2 & SK, 9701635, A & HU, 9702361, A2 & BR, 9706058, A	10, 35, 36, 49
Y	J P, 2-291276, A (Degussa AG.) 18. 4月. 1990 (18. 04. 90) & EP, 358940, A1 & GB, 2223754, A & DE, 68924227, B	10, 35, 36, 49

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J.P., 11-196887, A (三菱化学株式会社) 27. 7月. 1999 (27. 07. 99) (ファミリー無し)	10, 35, 36, 49
Y	J.P., 8-66189, A (三菱化学株式会社) 12. 3月. 1996 (12. 03. 96) (ファミリー無し)	10, 35, 36, 49
Y	MIKROBIOLOGIYA, Vol. 56[5](1987) M.P. Ruklish <i>et al.</i> "The functioning of the tricarboxylic acid cycle in <i>Brevibacterium flavum</i> and <i>Micrococcus glutamicus</i> " p. 759-763	11, 37, 38, 49
Y	J. Bacteriol., Vol. 175(1993) J.M. Mengaud <i>et al.</i> "The major iron-containing protein of <i>Legionella</i> <i>pneumophila</i> is an aconitase homologous with the human iron -responsive element-binding protein" p. 5666-5676	11, 37, 38, 49
Y	Eur. J. Biochem., Vol. 204(1992) C. Prodromou <i>et al.</i> "The aconitase of <i>Escherichia coli</i> . Nucleotide sequence of the aconitase gene and amino acid sequence similarity with mitochondrial isopropylmalate isomerases" p. 599-609	11, 37, 38, 49
Y	J. Bacteriol., Vol. 177(1995) B. J. Eikmanns <i>et al.</i> "Cloning, sequence analysis, expression, and inactivation of the <i>Corynebacterium glutamicum icd</i> gene encoding isocitrate dehydrogenase and biochemical characterization of the enzyme" p. 774-782	12, 39, 40, 49
Y	J. Bacteriol., Vol. 175(1993) A. Ishii <i>et al.</i> "Genes encoding two isocitrate dehydrogenase isozymes of a psychrophilic bacterium, <i>Vibrio</i> sp. strain ABE-1" p. 6873-6880	12, 39, 40, 49
Y	Genbank, Acc. No. Y16642(1999-Feb-01) B. J. Eikmanns <i>et al.</i> " <i>Corynebacterium glutamicum lpd</i> gene, complete CDS"	13, 41, 42, 49
Y	WO, 97/48790, A1 (味の素株式会社) 24. 12月. 1997 (24. 12. 97) & J.P., 10-87, A & EP, 974647, A1 特許請求の範囲, 38-40頁, 配列番号7	14, 43, 44, 49
Y	WO, 95/34672, A1 (味の素株式会社) 21. 12月. 1995 (21. 12. 95) & US, 5977331, A & EP, 771879, A1 特許請求の範囲, 配列番号1, 2	14, 43, 44, 49
Y	Mol. Microbiol., Vol. 6(1992) E. R. Boermann <i>et al.</i> "Molecular analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum gdh</i> gene encoding glutamate dehydrogenase" p. 317-326	15, 45, 46, 49

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P, 6-502548, A (Orsan) 24. 3月. 1994 (24. 03. 94) &EP, 551506, A1 &WO, 93/03158, A1 &FR, 2679921, A1 &FR, 2679922, A1 &US, 6027920, A	15, 45, 46, 49
Y	Microbiology, Vol. 140 (1994) B. J. Eikmanns <i>et al.</i> "Nucleotide sequence, expression and transcriptional analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum gltA</i> gene encoding citrate syntase" p. 1817-1828	16, 47, 48, 49
Y	Mol. Microbiol. Vol. 11 (1994) M. A. Pardo <i>et al.</i> "Nodulating ability of <i>Rhizobium tropici</i> is conditioned by a plasmid- encoded citrate syntase" p. 315-321	16, 47, 48, 49
Y	J P, 8-196280, A (味の素株式会社) 6. 8月. 1996 (06. 08. 96) &EP, 724017, A2 &FR, 2729970, A &SK, 9600112, A &ZA, 9600656, A &BR, 9600268, A	6, 27, 28, 49
Y	J P, 5-244958, A (味の素株式会社) 24. 9月. 1993 (24. 09. 93) &US, 5556776, A	6, 27, 28, 49

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31, C12N15/56, C12N9/88,
C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34, C12N9/26, C12P13/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31, C12N15/56, C12N9/88,
C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34, C12N9/26, C12P13/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JICST FILE (JOIS), WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), MEDLINE (STN),
EMBL/DDBJ/Genbank/PIR/Swissprot/Geneseq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 7-63383, B2, (Ajinomoto Co., Inc.), 12 July, 1995 (12.07.95), & FR, 2612937, A & US, 5250434, A & AU, 8811614, A & BR, 8801289, A & KR, 9606580, A	1-49
Y	JP, 4-4887, A (Ajinomoto Co., Inc.), 09 January, 1992 (09.01.92), & FR, 2661191, A & US, 5250423, A	1-49
Y	Microbiology, Vol.144 [5] (1998), K. Takai et al., "ppc, the gene for phosphoenolpyruvate carboxylase from an extremely thermophilic bacterium, <i>Rhodothermus obamensis</i> : Cloning, sequencing and overexpression in <i>Escherichia coli</i> ", pp.1423-1434	1-49
Y	JP, 5-56782, A (Ajinomoto Co., Inc.), 09 March, 1993 (09.03.93), & EP, 530765, A2 & US, 57700661, A & CA, 2077308, A & US, 5439822, A & TW, 260709, A & DE, 69217144, B	1, 17, 18, 49



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
19 December, 2000 (19.12.00)

Date of mailing of the international search report
26 December, 2000 (26.12.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO, 92/18635, A1 (Commonwealth Sci. & Ind. Res. Org.), 29 October, 1992 (29.10.92), & ZA, 9202761, A & AU, 9215771, A & NZ, 242370, A Fig. 5; Table 4	1, 17, 18, 49
Y	Gene, Vol.145[1] (1994) D.Wereecke et al. "Cloning and sequence analysis of the gene encoding isocitrate lyase from <i>Rhodococcus fascians</i> " pp.109-114	1, 17, 18, 19
Y	Arch. Microbiol, Vol.166[2] (1996) W. Jager et al. "A <i>Corynebacterium glutamicum</i> gene encoding a two-domain protein similar to biotin carboxylases and biotin-carboxyl-carrier proteins" pp.977-984	2, 19, 20, 49
Y	Mol. Microbiol, Vol.19(1996) S. Donadio et al. "Erythromycin production in <i>Saccharopolyspora erythraea</i> does not require a functional propionyl-CoA carbocylase" pp.977-984	2, 19, 20, 49
Y	WO, 94/08016, A1 (Arch Dev. Corp.), 14 April, 1994 (14.04.94), & EP, 663012, A1 & AU, 9352956, A & US, 5539092, A & US, 5756290, A & US, 5792627, A & US, 5972644, A Figs. 2,3; sequence No. 6	2, 19, 20, 49
Y	WO, 96/32484, A2 (Arch Dev. Corp.), & EP, 820514, A1 & AU, 9655432, A & US, 5910626, A Claim 32; sequence No. 8	2, 19, 20, 49
Y	Biosci. Biotechnol. Biochem., Vol.60(1996), E. Kimura et al., "Molecular cloning of a novel gene, <i>dtSR</i> , which rescues the detergent sensitivity of a mutant derived from <i>Brevibacterium lactofermentum</i> " pp.1565-1570	3, 4, 21-24, 49
Y	WO, 95/23224, A1 (Ajinomoto Co., Inc.), 31 August, 1995 (31.08.95), & EP, 752472, A1 & BR, 9506883, A & US, 5929221, A & DE, 69514914, B Claim 2, sequence No. 2	3, 4, 21-24, 49
Y	JP, 10-234371, A (Ajinomoto Co., Inc.), 08 September, 1998 (08.09.98) (Family: none)	3, 4, 21-24, 49
Y	JP, 7-121227, B2 (KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD.), 25 December, 1995 (25.12.95) (Family: none)	5, 25, 26, 49
Y	J. Bacteriol., Vol.178(1996) A. M. Alves et al., "Characterization and phylogeny of the <i>pfp</i> gene of <i>Amycolatopsis methanolica</i> encoding PPI-dependent phosphofructokinase" pp.149-155	5, 25, 26, 49
Y	Appl. Environ. Microbiol., Vol.63(1997), A.M.C.R.Alves et al., "Identification of ATP-dependent phosphofructokinase as a regulatory step in the glycolytic pathway of the actinomycete <i>Streptomyces</i> <i>coelicolor</i> A3(2)" pp.951-956	5, 25, 26, 49

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

IC (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	J. Bacteriol., Vol.177(1995) W. Kronmeyer et al. "Structure of the <i>gluABCD</i> cluster encoding the glutamate uptake system of <i>Corynebacterium glutamicum</i> ", pp.1152-1158	7, 29, 30, 49
Y	Eur. J. Biochem., Vol.227[1-2] (1995), C. Rollin et al., "13C-NMR studies of <i>Corynebacterium melassecola</i> metabolic pathways" pp.488-493	8, 31, 32, 49
Y	J. Bacteriol., Vol.176(1994), S. Hein et al., "Biochemical and molecular characterization of the <i>Alcaligenes eutrophus</i> pyruvate dehydrogenase complex and identification of new type of dihydrolipoamide dehydrogenase", pp.4394-4408	8, 31, 32, 49
Y	Eur. J. Biochem., vol.133(1983), P. E. Stephens et al., "The pyruvate dehydrogenase complex of <i>Escherichia coli</i> K12. Nucleotide sequence encoding the pyruvate dehydrogenase component", pp.155-162	8, 31, 32, 49
Y	WO, 99/18228, A2 (Forschungszentrum Juelich GmbH), 15 April, 1999 (15.04.99), & EP, 10125621, A2 & AU, 9911482, A & ZA, 9809014, A & DE, 19831609, A1 & SK, 200000481, A & BR, 9813021, A Claims 15, 18; sequence No. 2	9, 33, 34, 49
Y	JP, 10-165180, A (Ajinomoto Co., Inc.), 23 June, 1998 (23.06.98), & EP, 857784, A2 & SK, 9701635, A & HU, 9702361, A2 & BR, 9706058, A	10, 35, 36, 49
Y	JP, 2-291276, A (Degussa AG.), 18 April, 1990 (18.04.90), & EP, 358940, A1 & GB, 2223754, A & DE, 68924227, B	10, 35, 36, 49
Y	JP, 11-196887, A (Mitsubishi Chemical Corporation), 27 July, 1999 (27.07.99) (Family: none)	10, 35, 36, 49
Y	JP, 8-66189, A (Mitsubishi Chemical Corporation), 12 March, 1996 (12.03.96) (Family: none)	10, 35, 36, 49
Y	MIKROBIOLOGIA, Vol.56[5] (1987), M. P. Ruklish et al., "The functioning of the tricarboxylic acid cycle in <i>Brevibacterium flavum</i> and <i>Micrococcus glutamicus</i> ", pp.759-763	11, 37, 38, 49
Y	J. Bacteriol., Vol.175(1993), J. M. Mengaud et al., "The major iron-containing protein of <i>Legionella pneumophila</i> is an aconitase homologous with the human iron-responsive element-binding protein" pp.5666-5676	11, 37, 38, 49
Y	Eur. J. Biochem. Vol.204(1992), c. Prodromou et al., "The aconitase of <i>Escherichia coli</i> . Nucleotide sequence of the aconitase gene and amino acid sequence similarity with mitochondrial isopropylmalate isomerases", pp.599-609	11, 37, 38, 49

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/06913

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	J. Bacteriol., Vol.177(1995), B. J. Eikmanns et al., "Cloning, sequence analysis, expression, and inactivation of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>icd</i> gene encoding isocitrate dehydrogenase and biochemical characterization of the enzyme", pp.774-782	12,39,40,49
Y	J. Bacteriol., Vol.175(1993), A. Ishi et al., "Genes encoding two isocitrate dehydrogenase isozymes of a psychrophilic bacterium, <i>Vibrio</i> sp. Strain ABE-1", pp.6873-6880	12,39,40,49
Y	Genbank, Acc. No. Y16642 (01 February, 1999), B. J. Eikmanns et al., " <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>lpd</i> gene, complete CDS"	13,41,42,49
Y	WO, 97/48790, A1 (Ajinomoto Co., Inc.), 24 December, 1997 (24.12.97), & JP, 10-87, A & EP, 974647, A1 Claims; pages 38-40; sequence No. 7	14,43,44,49
Y	WO, 95/34672, A1 (Ajinomoto Co., Inc.), 21 December, 1995 (21.12.95), & US, 5977331, A & EP, 771879, A1 Claims; sequence Nos. 1, 2	14,43,44,49
Y	Mol. Microbiol., Vol.,6(1992), E. R. Boermann et al., "Molecular analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>gdh</i> gene encoding glutamate dehydrogenase", pp.317-326	15,45,46,49
Y	JP, 6-502548, A (Orsan), 24 March, 1994 (24.03.94), & EP, 551506, A1 & WO, 93/03158, A1 & FR, 2679921, A1 & FR, 2679922, A1 & US, 6027920, A	15,45,46,49
Y	Microbiology, Vol.140(1994), B. J. Eikmanns et al., "Nucleotide sequence, expression and transcriptional analysis of the <i>Corynebacterium glutamicum</i> <i>gltA</i> gene encoding citrate synthase", pp.1817-1828	16,47,48,49
Y	Mol. Microbil., Vol.11(1994), M. A. Pardo et al., "Nodulation ability of <i>Rhizobium tropici</i> is conditioned by a plasmid-encoded citrate synthase", pp.315-321	16,47,48,49
Y	JP, 8-196280, A (Ajinomoto Co., Inc.), 06 August, 1996 (06.08.96), & EP, 724017, A2 & FR, 2729970, A & SK, 9600112, A & ZA, 9600656, A & BR, 9600268, A	6,27,28,49
Y	JP, 5-244958, A (Ajinomoto Co., Ltd.), 24 September, 1993 (24.09.93), & US, 5556776, A	6,27,28,49

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT COOPERATION TREATY

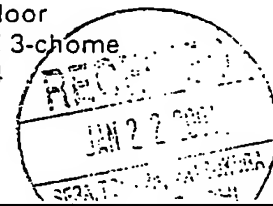
PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TOYAMA, Tsutomu
Yokoyama Building 6th floor
4-10, Higashi Nihonbashi 3-chome
Chuo-ku, Tokyo 103-0004
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 15 January 2001 (15.01.01)	
Applicant's or agent's file reference B691SMOP1072	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/JP00/06913	International filing date (day/month/year) 04 October 2000 (04.10.00)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 04 October 1999 (04.10.99)
Applicant AJINOMOTO CO., INC. et al	

1. The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
3. An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
4. The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
04 Octo 1999 (04.10.99)	11/282716	JP	08 Dece 2000 (08.12.00)
01 Nove 1999 (01.11.99)	11/311147	JP	08 Dece 2000 (08.12.00)
21 Apri 2000 (21.04.00)	2000/120687	JP	08 Dece 2000 (08.12.00)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Somsak Thiphrakesone

Telephone No. (41-22) 338.83.38

THIS PAGE BLANK (USPTO)

CORRECTED VERSION

From the INTERNATIONAL BUREAU

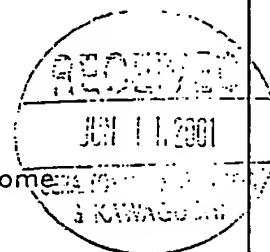
PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

TOYAMA, Tsutomu
Yokoyama Building 6th floor
4-10, Higashi Nihonbashi 3-chome
Chuo-ku, Tokyo 103-0004
JAPON



Date of mailing (day/month/year) 31 May 2001 (31.05.01)		
Applicant's or agent's file reference B691SMOP1072		IMPORTANT NOTICE
International application No. PCT/JP00/06913	International filing date (day/month/year) 04 October 2000 (04.10.00)	Priority date (day/month/year) 04 October 1999 (04.10.99)
Applicant AJINOMOTO CO., INC. et al		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:
AU,KP,KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

AE,AG,AL,AM,AP,AT,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CR,CU,CZ,DE,DK,
DM,DZ,EA,EE,EP,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,
KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OA,PL,PT,
RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZW

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on
12 April 2001 (12.04.01) under No. WO 01/25447

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p>	<p>Authorized officer Shinji IGARASHI</p>
<p>Facsimile No. (41-22) 740.14.35</p>	<p>Telephone No. (41-22) 338.83.38</p>

THIS PAGE BLANK (USPTO)

77
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference B69ISMOP1072	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/06913	International filing date (day/month/year) 04 October 2000 (04.10.00)	Priority date (day/month/year) 04 October 1999 (04.10.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/60, 15/54, 15/53, 15/31, 15/56, 9/88, 9/12, 9/04, C07K 14/34, C12N 9/26, C12P 13/04		
Applicant AJINOMOTO CO., INC.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 9 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 10 April 2001 (10.04.01)	Date of completion of this report 28 September 2001 (28.09.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. Basis of the report**1. With regard to the elements of the international application:***

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☒ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-49	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-49	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-49	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Document 1: JP, 7-63383, B2 (12.07.95)

Document 2: JP, 4-4887, A (09.01.92)

Document 3: K. Takai et al., "ppc, the gene for phosphoenolpyruvate carboxylase from an extremely thermophilic bacterium, Rhodothermus obamensis: Cloning, sequencing and over-expression in Escherichia coli", Microbiology (1988), Vol. 144, No. 5, pp. 1423-1434

Document 4: JP, 5-56782, A (09.03.93)

Document 5: WO, 92/18635, A1 (29.10.92)

Document 6: D. Wereecke et al., "Cloning and sequence analysis of the gene encoding isocitrate lyase from Rhodococcus fascians", Gene (1994), Vol. 145, No. 1, pp. 109-114

Document 7: W. Jager et al., "A Corynebacterium glutamicum gene encoding a two-domain protein similar to biotin carboxylases and biotin-carboxyl-carrier proteins", Arch. Microbiol. (1996), Vol. 166, No. 2, pp. 977-984

Document 8: S. Donadio et al., "Erythromycin production in Saccharopolyspora erythrae does not require a functional propionyl-CoA carbocyclase", Mol. Microbiol. (1996), Vol. 19, pp. 977-984

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- Document 9: WO, 94/08016, A1 (14.04.94)
- Document 10: WO, 96/32484, A2 (17.10.96)
- Document 11: E. Kimura et al., "Molecular cloning of a novel gene, *dtsR*, which rescues the detergent sensitivity of a mutant derived from *Brevibacterium lactofermentum*", *Biosci. Biotechnol Biochem.* (1996), Vol. 60, pp. 1565-1570
- Document 12: WO, 95/23224, A1 (31.08.95)
- Document 13: JP, 10-234371, A (08.09.98)
- Document 14: JP, 7-121227, B2 (25.12.95)
- Document 15: A. M. Alves et al., "Characterization and phylogeny of the *pfp* gene of *Amycolatopsis methanolica* encoding P_{Pi}-dependent phosphofructokinase", *J. Bacteriol.* (1996), Vol. 178, pp. 149-155
- Document 16: A. M. C. R. Alves et al., "Identification of ATP-dependent phosphofructokinase as a regulatory step in the glycolytic pathway of the actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3 (2)", *Appl. Environ. Microbiol.* (1997), Vol. 63, pp. 951-956
- Document 17: JP, 8-196280, A (06.08.96)
- Document 18: JP, 5-244958, A (24.09.93)
- Document 19: W. Kronemyer et al., "Structure of the *gluABCD* cluster encoding the glutamate uptake system of *Corynebacterium glutamicum*", *J. Bacteriol.* (1995), Vol. 177, pp. 1152-1158
- Document 20: C. Rollin et al., "¹³C-NMR studies of *Corynebacterium melassecola* metabolic pathways", *Eur. J. Biochem.* (1995), Vol. 227, No. 1-2, pp. 488-493
- Document 21: S. Hein et al., "Biochemical and molecular characterization of the *Alcaligenes eutrophus* pyruvate dehydrogenase complex and

THIS PAGE BLANK (USPTO)

identification of a new type of dihydro-lipoamide dehydrogenase", J. Bacteriol. (1994), Vol. 176, pp. 4394-4408

Document 22: P. E. Stephens et al., "The pyruvate dehydrogenase complex of Escherichia coli K12. Nucleotide sequence encoding the pyruvate dehydrogenase component", Eur. J. Biochem. (1983), Vol. 133, pp. 152-162

Document 23: WO, 99/18228, A2 (15.04.99)

Document 24: JP, 10-165180, A (23.06.98)

Document 25: JP, 2-291276, A (18.04.90)

Document 26: JP, 11-196887, A (27.07.99)

Document 27: JP, 8-66189, A (12.03.96)

Document 28: M. P. Ruklish et al., "The functioning of the tricarboxylic acid cycle in Brevibacterium flavum and Micrococcus glutamicus", Mikrobiologiya (1987), Vol. 56, No. 5, pp. 759-763

Document 29: J. M. Mengaud et al., "The major iron-containing protein of Legionella pneumophila is an aconitase homologous with the human iron-responsive element-binding protein", J. Bacteriol. (1993), Vol. 175, pp. 5666-5676

Document 30: C. Prodromou et al., "The aconitase of Escherichia coli. Nucleotide sequence of the aconitase gene and amino acid sequence similarity with the mitochondrial isopropyl-malate isomerases", Eur. J. Biochem (1992), Vol. 204, pp. 588-609

Document 31: B. J. Eikmanns et al., "Cloning and sequence analysis, expression and inactivation of the Corynebacterium glutamicum icd gene encoding isocitrate dehydrogenase and biochemical characterization of the enzyme", J. Bacteriol. (1995), Vol. 177, pp. 774-782

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- Document 32: A. Ishii et al., "Genes encoding two isocitrate dehydrogenase isoenzymes of a psychrophilic bacterium, *Vibrio* sp. strain ABE-1", *J. Bacteriol.* (1993), Vol. 175, pp. 6873-6880
- Document 33: B. J. Eikmanns et al., "Corynebacterium glutamicum lpd gene, complete CDS", Genbank (1 February 1999), Acc. No. Y16642
- Document 34: WO, 97/48790, A1 (24.12.97)
- Document 35: WO, 95/34672, A1 (21.12.95)
- Document 36: E. R. Boermann et al., "Molecular analysis of Corynebacterium glutamicum gdh gene encoding glutamate dehydrogenase", *Mol. Microbiol.* (1992), Vol. 6, pp. 317-326
- Document 37: JP, 6-502548, A (24.03.94)
- Document 38: B. J. Eikmanns et al., "Nucleotide sequence, expression and transcriptional analysis of the Corynebacterium glutamicum gltA gene encoding citrate synthase", *Microbiology* (1994), Vol. 140, pp. 1817-1828
- Document 39: M. A. Pardo et al., "Nodulating ability of *Rhizobium tropici* is conditioned by a plasmid-encoded citrate synthase", *Mol. Microbiol.* (1994), Vol. 11, pp. 315-321

Claim 49

Documents 1 and 2 disclose methods for amino acid fermentation using the thermophilic bacterium *Corynebacterium thermoaminogenes*.

The disclosures in Documents 1 and 2 differ from the inventions set forth in Claims 1, 17 and 18 in the present application in that the former do not mention an isocitrate lyase of the specified amino acid sequence from *Corynebacterium thermoaminogenes* which contributes to amino acid synthesis, or a nucleic acid which encodes the

THIS PAGE BLANK (USPTO)

same.

However, it was known before the filing date of the present application that enzymes for industrial use are preferably heat-resistant enzymes, and cloning of heat-resistant enzymes from a thermophilic bacterium was a known problem; and Document 3 discloses a means for solving this problem by constructing a primer based on the nucleic acid sequence of the gene for a desired enzyme which contributes to amino acid synthesis in another, closely related, species, cloning the desired heat-resistant enzyme and determining the sequence of the gene coding the desired enzyme.

Documents 4-6 disclose amino acid sequences of bacterial isocitrate lyase from closely related species and sequences of the nucleic acid coding the same, and since construction of a primer and cloning do not entail any unexpected special difficulty for a person skilled in the art, the inventions set forth in Claims 1, 17 and 18 could be deduced easily by a person skilled in the art from Documents 1-6.

Production of transformant microorganisms using a cloned gene, and amino acid fermentation, were routine practices before the filing date of the present application; therefore, the same applies to Claim 49.

The fact that the resulting enzyme is heat-resistant is obvious given the nature of the microorganism from which it comes and cannot, therefore, be regarded as surprising.

Similarly, Documents 7-10 disclose amino acid sequences for acyl-CoA carboxylases and sequences of nucleic acid coding the same; Documents 11-13 disclose amino acid sequences for Dtsr and sequences of nucleic acid coding the same; Documents 14-16 disclose amino acid sequences for phosphofructokinase and sequences of nucleic

THIS PAGE BLANK (USPTO)

acid coding the same; Documents 17 and 18 disclose amino acid sequences for proteins which are able to bestow the ability to utilize sucrose, and sequences of nucleic acid coding the same; Claim 19 discloses amino acid sequences of proteins which have a function contributing to glutamic acid uptake, and sequences of nucleic acid coding the same; Documents 20-22 disclose amino acid sequences for pyruvate dehydrogenase and sequences of nucleic acid coding the same; Document 23 discloses an amino acid sequence for pyruvate carboxylase and the sequence of nucleic acid coding the same; Documents 24-27 disclose amino acid sequences for phosphoenolpyruvate carboxylase and sequences of nucleic acid coding the same; Documents 28-30 disclose amino acid sequences for aconitase and sequences of nucleic acid coding the same; Documents 31 and 32 disclose amino acid sequences for isocitrate dehydrogenase and sequences of nucleic acid coding the same; Document 33 discloses an amino acid sequence for dihydrolipoamide dehydrogenase and the sequence of nucleic acid coding the same; Documents 34-35 disclose amino acid sequences for 2-oxoglutarate dehydrogenase and sequences of nucleic acid coding the same; Documents 36 and 37 disclose amino acid sequences for glutamate dehydrogenase and sequences of nucleic acids coding the same; and Documents 38 and 39 disclose amino acid sequences for citrate synthase and sequences of nucleic acid encoding the same.

Therefore, the inventions relating to acyl-CoA carboxylases set forth in Claims 2, 19 and 20, the inventions relating to Dtsr set forth in Claims 3, 4 and 21-24, the inventions relating to phosphofructokinase set forth in Claims 5, 25 and 26, the inventions relating to proteins capable of bestowing the ability to utilize sucrose set forth in Claims 6, 27 and 28, the inventions relating to proteins having a function contributing to

THIS PAGE BLANK (USPTO)

glutamate uptake set forth in Claims 7, 29 and 30, the inventions relating to pyruvate dehydrogenase set forth in Claims 8, 31 and 32, the inventions relating to pyruvate carboxylase set forth in Claims 9, 33 and 34, the inventions relating to phosphoenolpyruvate carboxylase set forth in Claims 10, 35 and 36, the inventions relating to aconitase set forth in Claims 11, 37 and 38, the inventions relating to isocitrate dehydrogenase set forth in Claims 12, 39 and 40, the inventions relating to dihydrolipoamide dehydrogenase set forth in Claims 13, 41 and 42, the inventions relating to 2-oxoglutarate dehydrogenase set forth in Claims 14, 43 and 44, the inventions relating to glutamate dehydrogenase set forth in Claims 15, 45 and 46 and the inventions relating to citrate synthase set forth in Claims 16, 47 and 48 could be conceived easily from the aforementioned documents.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

REC'D 12 OCT 2001

WIPO

PCT

出願人又は代理人 の書類記号	B 6 9 1 S M O P 1 0 7 2	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ I P E A / 4 1 6)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 0 0 / 0 6 9 1 3	国際出願日 (日.月.年) 0 4 . 1 0 . 0 0	優先日 (日.月.年) 0 4 . 1 0 . 9 9	
国際特許分類 (IPC) Int. Cl ⁷ C12N15/60, C12N15/54, C12N15/53, C12N15/31, C12N15/56, C12N9/88, C12N9/12, C12N9/04, C07K14/34, C12N9/26, C12P13/04			
出願人 (氏名又は名称) 味 の 素 株 式 会 社			

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 6 ページからなる。

☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で _____ ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 1 0 . 0 4 . 0 1	国際予備審査報告を作成した日 2 8 . 0 9 . 0 1		
名称及びあて先 日本国特許庁 (I P E A / J P) 郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 上 條 肇	4 B	9 4 5 3
電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 4 8			

様式PCT/I P E A / 4 0 9 (表紙) (1998年7月)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
☐ 明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
☐ 明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
☐ 図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
☐ 図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	1-49	有
	請求の範囲		無
進歩性 (IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1-49	無
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1-49	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

- 文献1: JP 7-63383 B2 (12.07.95)
 文献2: JP 4-4887 A (09.01.92)
 文献3: K. TAKAI *et al.*, *ppc*, the gene for phosphoenolpyruvate carboxylase from an extremely thermophilic bacterium, *Rhodothermus obamensis*: Cloning, sequenceing and overexpression in *Escherichia coli*, Microbiology(1998), Vol. 144, No. 5, p. 1423-1434
 文献4: JP 5-56782 A (09.03.93)
 文献5: WO 92/18635 A1 (29.10.92)
 文献6: D. WERECKE *et al.*, Cloning and sequence analysis of the gene encoding isocitrate lyase from *Rhodococcus fascians*, Gene(1994), Vol. 145, No. 1, p. 109-114
 文献7: W. JAGER *et al.*, A *Corynebacterium glutamicum* gene encoding a two-domain protein similar to biotin carboxylases and biotin-carboxyl-carrier proteins, Arch. Microbiol(1996), Vol. 166, No. 2, p. 977-984
 文献8: S. DONADIO *et al.*, Erythromycin production in *Saccharopolyspora erythraea* does not require a functional propionyl-CoA carbocylase, Mol. Microbiol(1996), Vol. 19, p. 977-984
 文献9: WO 94/08016 A1 (14.04.94)
 文献10: WO 96/32484 A2 (17.10.96)
 文献11: E. KIMURA *et al.*, Molecular cloning of a novel gene, *dtsR*, which rescues the detergent sensitivity of a mutant derived from *Brevibacterium lactofermentum*, Biosci. Biotechnol. Biochem. (1996), Vol. 60, p. 1565-1570
 文献12: WO 95/23224 A1 (31.08.95)
 文献13: JP 10-234371 A (08.09.98)
 文献14: JP 7-121227 B2 (25.12.95)
 文献15: A. M. ALVES *et al.*, Characterization and phylogeny of the *pfp* gene of *Amycolatopsis methanolica* encoding P_{Pi}-dependent phosphofructokinase, J. Bacteriol. (1996), Vol. 178, p. 149-155
 文献16: A. M. C. R. ALVES *et al.*, Identification of ATP-dependent phosphofructokinase as a regulatory step in the glycolytic pathway of the actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2), Appl. Environ. Microbiol. (1997), Vol. 63, p. 951-956
 文献17: JP 8-196280 A (06.08.96)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない 合に使用すること)

第 V 欄の続き

- 文献18: J P 5-244958 A (24. 09. 93)
文献19: W. KRONMYER *et al.*, Structure of the *gluABCD* cluster encoding the glutamate uptake system of *Corynebacterium glutamicum*, J. Bacteriol. (1995), Vol. 177, p. 1152-1158
文献20: C. ROLLIN *et al.*, ¹³C-NMR studies of *Corynebacterium melassecola* metabolic pathways, Eur. J. Biochem. (1995), Vol. 227, No. 1-2, p. 488-493
文献21: S. HEIN *et al.*, Biochemical and molecular characterization of the *Alcaligenes eutrophus* pyruvate dehydrogenase complex and identification of a new type of dihydrolipoamide dehydrogenase, J. Bacteriol. (1994), Vol. 176, p. 4394-4408
文献22: P. E. STEPHENS *et al.*, The pyruvate dehydrogenase complex of *Escherichia coli* K12. Nucleotide sequence encoding the pyruvate dehydrogenase component, Eur. J. Biochem. (1983), Vol. 133, p. 155-162
文献23: WO 99/18228 A2 (15. 04. 99)
文献24: J P 10-165180 A (23. 06. 98)
文献25: J P 2-291276 A (18. 04. 90)
文献26: J P 11-196887 A (27. 07. 99)
文献27: J P 8-66189 A (12. 03. 96)
文献28: M. P. RUKLISH *et al.*, The functioning of the tricarboxylic acid cycle in *Brevibacterium flavum* and *Micrococcus glutamicus*, MIKROBIOLOGIYA (1987), Vol. 56, No. 5, p. 759-763
文献29: J. M. MENGAUD *et al.*, The major iron-containing protein of *Legionella pneumophila* is an aconitase homologous with the human iron-responsive element-binding protein, J. Bacteriol. (1993), Vol. 175, p. 5666-5676
文献30: C. PRODROMOU *et al.*, The aconitase of *Escherichia coli*. Nucleotide sequence of the aconitase gene and amino acid sequence similarity with mitochondrial isopropylmalate isomerases, Eur. J. Biochem. (1992), Vol. 204, p. 599-609
文献31: B. J. EIKMANN *et al.*, Cloning, sequence analysis, expression, and inactivation of the *Corynebacterium glutamicum icd* gene encoding isocitrate dehydrogenase and biochemical characterization of the enzyme, J. Bacteriol. (1995), Vol. 177, p. 774-782
文献32: A. ISHII *et al.*, Genes encoding two isocitrate dehydrogenase isozymes of a psychrophilic bacterium, *Vibrio* sp. strain ABE-1, J. Bacteriol. (1993), Vol. 175, p. 6873-6880
文献33: B. J. EIKMANN *et al.*, *Corynebacterium glutamicum lpd* gene, complete CDS, Genbank (1999-Feb-01), Acc. No. Y16642
文献34: WO 97/48790 A1 (24. 12. 97)
文献35: WO 95/34672 A1 (21. 12. 95)
文献36: E. R. BOERMANN *et al.*, Molecular analysis of the *Corynebacterium glutamicum gdh* gene encoding glutamate dehydrogenase, Mol. Microbiol. (1992), Vol. 6, p. 317-326
文献37: J P 6-502548 A (24. 03. 94)
文献38: B. J. EIKMANN *et al.*, Nucleotide sequence, expression and transcriptional analysis of the *Corynebacterium glutamicum gltA* gene encoding citrate synthase, Microbiology (1994), Vol. 140, p. 1817-1828
文献39: M. A. PARDO *et al.*, Nodulating ability of *Rhizobium tropici* is conditioned by a plasmid-encoded citrate synthase, Mol. Microbiol. (1994), Vol. 11, p. 315-321

THIS PAGE BLANK (USPTO)

補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

第 V 欄の続き

請求の範囲1-49

文献1, 2には耐熱性細菌コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスを用いてアミノ酸醗酵をする方法が記載されている。

文献1, 2には特定のアミノ酸配列を有するコリネバクテリウム・サーモアミノゲネス由来のアミノ酸合成に関与するイソシトレートリアーゼ及びそれをコードする核酸が記載されていない点で本願請求項1, 17, 18に記載の発明と相違する。

しかしながら、本出願前に工業用酵素として耐熱性のものが好ましいこと、及び耐熱性酵素を耐熱性細菌からクローニングしようとすることは周知の課題である。また、その手法として、他の近縁の細菌から目的のアミノ酸合成に関与する酵素の遺伝子の核酸配列を基とするプライマーを作成し、目的の耐熱性酵素をクローニングし酵素をコードする遺伝子の配列の決定を行うことは文献3に記載されている。

そして、近縁の細菌由来のイソシトレートリアーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献4～6に記載されており、プライマーの作成、クローニング作業についても当業者にとって予見可能な程度の格別の困難性があつたとも認められないから、請求の範囲1, 17, 18に記載の発明は当業者が文献1～6より容易になし得るものである。

クローニングされた遺伝子を基に組み換え微生物を作成し、アミノ酸醗酵を行うことは本出願前の常套手段であるから請求の範囲49についても同様である。

得られた酵素が耐熱性を有することは由来となる微生物の特性から自明の範囲であり、格別のこととすることはできない。

また、アシルC o - Aカルボキシラーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献7～10に記載され、D t s rのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献11～13に記載され、ホスホフルクトキナーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献14～16に記載され、スクロース資化能を付与する活性を有する蛋白質のアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献17～18に記載され、グルタミン酸の取り込みに関与する機能を有する蛋白質のアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献19に記載され、ピルビン酸デヒドロゲナーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献20～22に記載され、ピルビン酸カルボキシラーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献23に記載され、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献24～27に記載され、アコニターゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献28～30に記載され、イソクエン酸デヒドロゲナーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献31～32に記載され、ジヒドロリポアミドデヒドロゲナーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献33に記載され、2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献34～35に記載され、グルタミン酸デヒドロゲナーゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献36～37に記載され、クエン酸シンターゼのアミノ酸配列及びそれをコードする核酸の配列については文献38～39に記載されている。

よって、アシルC o - Aカルボキシラーゼに関する請求の範囲2, 19, 20に係る発明、D t s rに関する請求の範囲3, 4, 21-24に係る発明、ホスホフルクトキナーゼに関する請求の範囲5, 25, 26に係る発明、スクロース資化能を付与する活性を有する蛋白質に関する請求の範囲6, 27, 28に係る発明、グルタミン酸の取り込みに関与する機能を有する蛋白質に関する請求の範囲7, 29, 30に係る発明、ピルビン酸デヒドロゲナーゼに関する請求の範囲8, 31, 32に係る発明、ピルビン酸カルボキシラーゼに関する請求の範囲9, 33, 34に係る発明、ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼに関する請求の範囲10, 35, 36に係る発明、アコニターゼに関する請求の範囲11, 37, 38に係る発明、イソクエン酸デヒドロゲナーゼに関する請求の範囲12, 39, 40に係る発明、ジヒドロリポアミドデヒドロゲナーゼに関する請求の範囲13, 41, 42に係る発明、2-オキ

THIS PAGE BLANK (USPTO)

補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

第 V . 欄の続き

ソグルタル酸デヒドロゲナーゼに関する請求の範囲14, 43, 44に係る発明、グルタミン酸デヒドロゲナーゼに関する請求の範囲15, 45, 46に係る発明、クエン酸シンターゼに関する請求の範囲16, 47, 48に係る発明のそれぞれについても、同様に上記各文献から容易になし得るものである。

THIS PAGE BLANK (USPTO)